日本水産学会誌

第二十三巻 第十二号

Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries

Vol. 23, No. 12, 1958

目 次

昭和三十三年
日本水産学会
The Japanese Society of Scientific Fisheries
TOKYO

CONTENTS

* In Japanese with synopsis in English.

All communications and publications should be addressed to :
Japanese Society of Scientific Fisheries, c/o Tokyo University of Fisheries, Shiba Kaigandori 6-chome, Tokyo, Japan.

日 本 水 産 学 会 投 稿 規 定

1. 報文の投稿者は本会員個人に限る。但し会員外の共同研究者を含むことは差支えない。
2. 報文は投稿者の原著で他の刊行物に未発表のものに限る。
3. 報文は総て本会に送付し，本会に到着した日を以つて，受付月日とし，受付けた原稿は総て編集長の指定する2名の編集理事が回覧し，掲載可と認めたものはそのまゝ受理する。この場合の受理月日は受付月日とする。編集理事が其のまゝ掲載することに疑義をいだいた場合は編集長にその旨報告する。この場合編集長は編集会議を招集，審議し，受理し得ないと認めた場合はその理由を附し，原著者に返却し，訂正を求める。この場合の受理月日は，学会が訂正原稿を受理した月日とする。受理した論文は，その受理月日の順に掲載する。但し，その報文又は報文抄録が印刷費著者負担の場合は，会誌を増頁して掲載する。抄録を希望する場合は本論文をそえて提出すること。
4. 原稿1篇の長さは原則として刷上り4頁（表題．200 語の英文抄録を除き，図表の占める紙面を含め約 7000 字相当）とする。原稿一篇の学会負担の基準印刷費（7.200 円）を超過した場合は著者が負担する。
5. 会員が会費又は著者として負担すべき印刷費の支払いを怠るときは，支払いのあるまでその会員の報文の受理又は掲載を見合せることがある。
6. 邦文報告には原則として 200 語以内の英文抄録（題名と著者名とを附記，名前は省略せぬこと,）を添える。
7. 図表には英文の説明をつける。邦文を併用してもよい。
8. 投稿の細目については別に定める注意書きに従う。

投 稿 に 関 す る 注 意

1. 原稿を投稿するときには，本会所定の投稿カード（請求により配付する）に必要事項を記入し，之を原稿に添え本会に提出する。
2. 初校は原則として，著者が校正する（校正は迅速に行う事)。尚文章又は図，表の変更や追加は禁ずる。再校以後は編集部で校正する。
3. 英文抄録，図及び表の表題，説明等の英訳を希望される向はその原案を添えて投稿されたい。但し実費を申し受ける。
4. 別刷りの料金（X円）は次の式によつて算出される通りとする。X＝(1＋P)（N—50）円P：頁数，N：別刷数（50 部を単位とする）従つて 50 部までは頁数に関らず無料である。特に表紙をつけることを希望される場合は，著者負担によつてこれをつける。(50 部当り 300 円)
5. 投稿後掲載までの間に著者の連絡先が変つたときには必ず通知されたい。

原 稿 の 書 き 方

原稿は会誌体裁の統一，誤りの防止，編集印刷の便宜上次の諸規定を守られたい。既出報文との調和其の他のために例外を望まれる著者はその都度明記されたい。

1. **邦文原稿**は本会所定の原稿用紙にペンで横書きにし，記述は簡単明瞭にし新かなづかいを用いて難かしい漢字はさける。英文抄録は本文とは別葉にする。
2. **欧文原稿**は厚手の上質紙に2段送りのタイプで打つ。欧文本文以外の欧文個所はペン書きでもよいが必ず活字体を用いる。
3. **字体の指定**は右の如く赤で入れる。

abcd イタリ	abcd g、ゴチ	Abcd (大)	ABCD s. c.	OO\1)/	A/12\
Italic	**Gothic**	CAPITAL	CAP. & SMALL CAP.	うわつき（かたつき）	したつき

4. **表題** 主題・副題は別行に書き各々ピリオド（.）をつけない。第○報の場合はローマ数字（I，II）にして（——）でつなぎ数字の後に（.）をつける。
英文主題では第一語の他，名詞，副詞，形容詞，〔動詞は慣用に従う〕の頭文字は大文字にする。

5. **著者名** 邦文では連名の時は（・）で連ねる。ローマ字では名の頭を Capital 後は Small，姓の頭を Capital 後は Small Capital にする。連名の時は（,）で連ね最後の名の前を（and）で連ねる。（&）は用いない。末尾に（.）はつけない。

6. **所属** 著者名の下に（ ）で囲む。本文が邦文の時は英文の所属は入れない。但し著者が希望すれば脚註で入れてもよい。本文が英文の時は字体を *Italic* にする。

7. **図表** 表題，説明，内容とも英文で書く。必要ならば邦文併用もよい。番号は（Fig. 1. Table 1.）とする。番号，表題，説明は図ではその下に，表ではその上に入れる。表の細かい説明は下でもよい。邦文併用の時は邦文の番号（第1図，第1表）は省く。図表は必ず本文と別葉にし，本文中に挿入個所を赤で指定する。又本文中に引用する時は（Fig. 1，Table 1）を用いる。

8. **附図** 附図は1頁大の図版で（Plate）とし，なるべく図末に入れる。原図が写真であつても本文中に組込む時は Fig. にする。附図の番号はローマ数字（I，II）を用いる。

9. **生物名** 邦文ではカタカナの和名の次に，学名を *Italic*（命名者名は Roman で頭文字を Capital，後を Small Cap.）で入れ，英文では俗名の次に学名を邦文と同様に入れる。〔その間は（,）で切る〕これを原則とするが論文により必要がなければ一部又は全部の学名，俗名を略してもよい。学名は（ ）で囲まない事。

10. **化学名** 邦文中の外来語の化学名は一般的なものはカタカナを用い，英文を用いねばならない時は Small で入れる。

11. **人名** まぎれない時は姓のみを記し名と敬称とを省いてもよい。欧名でも姓のみで頭文字は後は Capital，後は Small capital で書く。

12. **単位及び記号** 単位を表わす文字は英文中では（C.，cc.，m*l*.，kg.，m.）の如く（.）をつける。但し（Ω, μ, γ, N, M, pH，及び方位の N, S, E, W）には（.）をつけない。邦文中ではこれらの（.）はすべて省く。量を代表する記号は（長さ *l*，高さ *h*）の如く *Italic* にする。

13. **邦文本文中の外国語**（横文字の場合）は人名，地名，ドイツ語の名詞等を除き Small で入れる。同一邦文中で同一物名の和洋語の混用はさける。

14. **文献** 本文中の関連個所にうわつきで一貫番号をつけ一括して末尾に集める。番号はアラビヤ数字（1,2,3）を用い片カッコ（1），パーレン）で囲み各行の末尾にピリオド（.）をつける。著者名は姓と名とを書き著者名の後はコロン（：）で切る。雑誌名の略し方は慣用方に従う。日本水産学会誌のことは本誌とする。英文雑誌名は *Italic* で書く。雑誌の巻番号は Gothic にする。西歴年号は必ず入れる。文献の見出しは（文献，References）とする。同一著者名，同一雑誌名を連記する時は（——）で略してもよい。
文献の書き方について著者の都合で上の指定によらない時は特にその事を付記しておく事。

15. **脚註** 脚註は数字でない記号（*，**）を用い関係頁の下段に入れ巻末に集めない。

サンマ棒受網漁業の漁獲性能

井上　実・渡辺佳一郎
（東京水産大学）（千葉県水産試験場）

Translation Reprint File

The Fishing Power of Saury Blanket Net (Bōuke-Ami) Fishery.

Makoto INOUE, Kaichirō WATANABE

The fishing power of saury blanket net (Bouke-Ami) boats based on the fishing ports in Awa-Gun in Chiba prefecture was studied by means ef using daily catch of each boat reported from 97 boats and the results obtained were as follows.

1) The size of net, the number of attraction lump and another elements of boat as shown in Tables 1～4 have no connection with the fishing power of saury blanket net fishery.

2) Through the fishing season, the average catch of 10～29 tons class in the fishing boats are equal to about 60 percent of that of above 30 tons class as shown in Fig. 2.

サンマ棒受網漁業の漁獲性能が漁船，漁具等によつて，どのように相違するかを千葉県安房郡の漁港（館山，千倉，勝山等）を根拠とする漁船 97 隻について調べた。

§. 千葉県水産試験場館山本場が昭和 30 年度の漁期の内で，9月 12 日から 11 月8日までに出漁したサンマ棒受網漁船から聴取した日々の漁獲量を用いて，5日毎に1航海平均漁獲量を求め，船型が近い漁船は操業も近い場所で行われたものと仮定して，10～19 屯の 30 隻，20～29 屯の 38 隻，30～39 屯の 11 隻 50 屯以上の 18 隻の4船型について，船型別に田内博士の方式[1] (Table 1) によつて漁獲性能の指数を計算した。尚，40～49 屯型は隻数が少ないので省いた。その結果は，聞取り調査で知られた網や集魚灯の見積りと併せて Table 2～5 に示される。（聞取り調査の不明の船は表から省いた）

§. これらの表で，各船型別に性能の比率の上位から5隻，下位から5隻を選び，良，不良船に区別し，聞取り調査もこれらの船を重点的に調べた。但し 30～39 屯は隻数が少ないので，上下位3隻づつとした。

これらの表をみると 10～19 屯級と 20～29 屯級では指数の開きは，性能の良不良船とでは2倍近いが，網の大きさや集魚灯の照度，灯色等にそれ程大きい違いはないので，指数の高低が網や集魚灯などと関連があるとも思われず，30～39 屯級と 50 屯以上級では，指数の開きが前者にくらべずつと小さく，又網や集魚灯にも大差がないので，この関連は考えられない。

ところが漁獲性能の指数の高いもの程，出漁日数の多い傾向が Fig. 1 でもはつきりと見られる。

元来サンマ棒受網漁業に従事する漁船は他の漁期には突棒，一本釣，延縄のいづれかに従事するので，この時期にもサンマ棒受網だけを用いるとは限らない。例えば突棒を得意とする漁船はサンマを追うメカジキなどを選ぶであろうから，サンマ棒受網を用いる回数が少くなると同時に，その漁獲性能の指数が低くなることも当然予想されることだ。

§. また船型別に5日毎の1航海平均漁獲量を計算すると Fig. 2 のようで，29 屯以下の漁船は 30 屯以上の漁船にくらべ，毎航海約6割の漁獲を挙げたことがわかる。尚，40～49 屯級の漁獲量は 6隻の平均である。

又この図で，漁獲量に週期的に高低が生ずるので，月の遡望との関係を求めたが，はつきりしたことは判らない。

終りに本研究に当り，論文の校閲並に終始御指導を賜つた田内森三郎博士，また資料蒐集に際し御援助を賜つた千葉県水産試験場漁業無線局，各漁業組合の諸氏に深謝する。

文　献

1) 田内森三郎：漁具物理学，1953，東京水産大学版（プリント）

1957 年9月2日　受理

Table 1. An example of the calculation of fishing power (relative value) by Tauchi's method (30~39 tons class)

Name of boats	A		B		C		D		E		F		G		H		I		J		K				
Date	a_i	a_ix_i	b_i	b_ix_i	c_i	c_ix_i	d_i	d_ix_i	e_i	e_ix_i	f_i	f_ix_i	g_i	g_ix_i	h_i	h_ix_i	i_i	i_ix_i	j_i	j_ix_i	k_i	k_ix_i	x	x_i	$(x_i)^2$
Sept. 12~14	$\times10^2$ 15	$\times10^5$ 17.1	$\times10^2$ 8	$\times10^5$ 9.1	$\times10^2$ 0	$\times10^5$ 0	$\times10^2$ 0	$\times10^5$	$\times10^2$ 40	$\times10^2$ 45.5	$\times10^2$ 0	$\times10^5$ 0	$\times10^2$ 10	$\times10^2$ 11.3	$\times10^2$ 15	$\times10^5$ 17.4	$\times10^2$ 5	$\times10^5$ 5.7	$\times10^2$ 20	$\times10^2$ 22.8	$\times10^2$ 12	$\times10^5$ 13.7	$\times10^2$ 125	$\times10^2$ 11.63	$\times10^5$ 12.8
15~19	27	83.7	28	86.7	60	186.7	18	55.7	45	139.5	10	31.0	20	62.0	43	133.3	40	124.0	35	108.5	15	46.5	341	31.00	96.1
20~24	70	452.5	70	452.5	71	458.9	75	484.8	37	239.2	90	581.0	100	646.4	40	258.6	63	407.2	25	161.6	70	452.5	711	64.64	417.8
25~29	95	524.2	80	441.4	70	386.3	43	237.3	73	402.8	40	220.7	35	193.1	45	248.3	38	209.7	60	331.1	28	154.5	607	55.18	304.5
Sept, Oct, 30~4	85	409.5	0	0	40	192.7	57	274.6	80	385.4	65	313.0	30	144.5	85	409.5	55	265.0	33	159.0	0	0	530	48.18	232.0
5~9	55	170.5	70	217.0	21	65.1	0	0	20	62.0	23	71.5	49	151.9	20	62.0	18	55.8	30	93.0	35	108.5	341	31.00	96.1
10~14	55	300.8	65	355.3	42	229.5	110	601.0	63	344.2	43	235.0	35	191.2	68	371.8	30	164.0	65	355.3	25	136.6	601	54.64	299.4
15~19	33	112.2	53	180.2	37	125.8	44	149.6	44	166.6	35	119.2	13	44.2	37	125.8	34	115.6	34	115.6	5	17.0	374	34.00	115.6
20~24	15	24.4	20	32.5	17	27.7	20	32.5	15	24.4	20	32.6	7	11.4	13	21.2	30	48.8	10	16.3	12	19.5	179	16.27	26.5
25~29	43	184.5	60	257.5	100	429.1	40	171.6	40	171.6	53	223.0	33	141.6	28	120.1	55	236.0	0	0	20	85.8	472	42.91	184.1
Oct. Nov. 30~3	28	79.8	14	39.9	—	—	37	105.5	30	85.5	30	85.5	30	85.5	20	57.0	33	94.0	23	65.6	40	114.0	285	28.50	81.2
3~8	30	105.6	70	246.4	—	—	35	123.2	23	81.0	45	158,2	35	123.2	42	147.8	20	70.4	35	123.0	17	59.0	352	35.20	123.9
Σ		2464.8		2318.4		2101.1		2235.8		2147.7		2070.7		1806.3		1972.5		1796.2		1551.8		1207.6			1990.0
$\Sigma\ (x_i)^2$		1990.0		1990.0		1784.9		1990.0		1990.0		1990.0		1990.0		1990.0		1990.0		1990.0		1990.0			
Relative value		$\frac{2464.8}{1990.0}=1.23$		1.16		1.18		1.12		1.08		1.04		.91		.99		.90		.78		.61			

Note: 1) a_i, b_i, c_i ……= x/m kan (the average catch per day) Where x = total catch of Boat A, B, C……in the respective dates
m = the number of fishing days Boat A, B, C in the respective dates

2) x_i = x/m × n (the average catch per day and boat) Where n = the number of boats in the respective dates .

Table 2. Elements and relative fishing power of blanket net boats (10∼19 tons class)

Name of boats		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
Fishing ability		High					Low				
Tonnage	(t)	16	19	19	18	18	19	17	18	15	19
Horse power	(IP)	65	68	100	40	60	65	40	50	60	75
Size of Net: Length	(k)	13	10	13	13	13	14	15	12	14	18
Size of Net: Breadth	(k)	12	28	11	11	8	11	13	10	10	16
Dynamo	(kw)	12.5	15.0	12.5	15.0	12.5	7.5	10.0	15.0	12.5	12.5
Attraction Iump: Right red lump		0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Attraction Iump: Right whith Iump		15	21	18	10	10	4	12	13	12	20
Attraction Iump: Left red Iump		4	5	4	3	3	3	3	4	3	3
Attraction Iump: Left white Iump		5	5	6	5	5	7	6	5	5	3
Number of crew		18	20	20	22	20	17	21	23	20	23
Fishing days		26	31	36	33	32	29	25	26	14	19
Relative value		1.42	1.39	1.39	1.26	1.22	.64	.63	.57	.57	.57

Note ; 1) The size of net is shown by the length of border-rope
2) I ken=1.5 meters
3) The attraction lump is usually used 500 watts
4) The voltage of dynamo is 100 volt

Table 3. Flements and relative fishing power of blanket net boats (20∼29 tons class)

Name of boats		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
Fishing ability		High										Low				
Tonnage	(t)	20	29	29	27	29	28	27	29	23	25	29	25	25	27	20
Horse power	(IP)	78	140	140	100	140	120	120	100	75	100	120	100	110	100	60
Size of Net: Length	(k)	15	13	30	15	13	13	8.5	13	13	14	12	14	15	15	13
Size of Net: Breadth	(k)	13	10.5	14	13	10.5	22	9	11.5	11.5	12	10	12	10	13	11
Dynamo	(kw)	22.5	12.5	20.0	22.5	12.5	15.0	12.5	12.5	12.5	17.0	15.0	17.0	20.0	15.0	17.0
Attraction Iump: Right red Iump		0	1	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0
Attraction Iump: Right wite Iump		30	15	9	35	15	22	20	18	20	18	18	18	20	20	24
Attraction Iump: Left red Iump		5	2	0	5	2	3	4	5	4	4	5	4	5	5	6
Attraction Iump: Left white Iump		3	5	23	2	5	8	6	5	6	10	4	10	0	6	5
Number of crew		22	20	21	27	20	24	18	22	20	27	20	27	23	24	20
Fishing days		41	25	31	37	25	37	32	28	15	27	26	24	23	30	16
Relative value		1.49	1.48	1.37	1.35	1.48	1.22	1.18	1.06	.83	.72	.70	.66	.65	.53	.34

Table 4. Elements and relative fishing power of blanket net boats (30∼39 tons class)

Name of boat		A	B	C	D	E	F	G	H
Fishing ability		High					Low		
Tonnage	(t)	39	39	33	35	39	34	30	36
Horse power	(IP)	140	120	100	160	140	100	100	120
Size of Net: Length	(k)	15	15	15	14	16	14	14	16
Size of Net: Breadth	(k)	16	12	10	14	16	12	11	12
Dynamo	(kw)	20.0	22.5	20.0	17.5	20.0	17.5	17.0	17.5
Attraction Iump: Right red Iump		0	0	0	0	0	0	0	0
Attraction Iump: Right white Iump		28	35	28	15	28	15	26	20
Attraction Iump: Left red Iump		4	5	4	2	4	4	5	4
Attraction Iump: Left white Iump		10	2	10	6	10	5	6	5
Number of crew		27	25	27	23	28	36	20	24
Fishing days		35	36	35	31	26	32	25	23
Relative value		1.23	1.16	1.18	1.12	1.08	.90	.78	.61

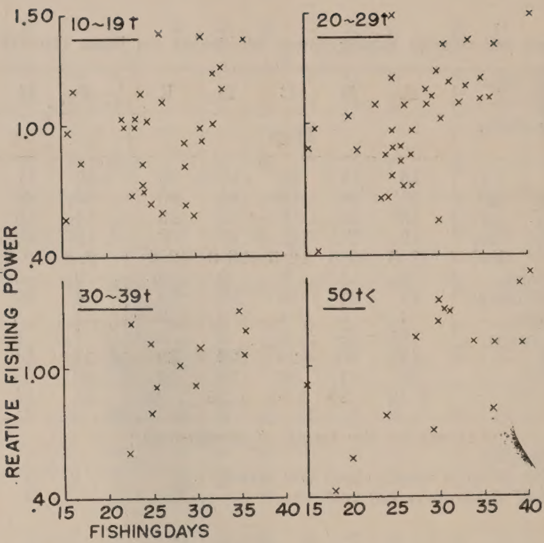


Fig. 1. The relation between relative fishing power and fishing days

Table 5. Elements and relative fishing power blanket net boats (above 50 tons)

Name of boats / Fishing ability		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
		High								Low				
Tonnage	(t)	67	76	59	68	65	74	68	67	55	83	80	65	88
Horse power	(IP)	230	210	180	210	210	230	210	230	140	230	160	180	275
Size of Net: Length	(k)	12.5	16	13	14	15	17	17	12.5	13	17	19	14	15
Size of Net: Breadth	(k)	14.5	14	11	14	13	16	13	15	11	16	18	12	13
Dynamo	(kw)	22.5	25.0	25.0	30.0	25.0	25.0	25.5	25.0	22.5	22.5	20.0	20.0	22.5
Attraction Iump: Right red Iump		0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
Attraction Iump: Right white Iump		30	35	25	28	29	28	30	23	23	23	20	26	28
Attraction Iump: Left red Iump		0	3	5	10	10	5	2	6	6	6	2	6	6
Attraction Iump: Leff white Iump		9	2	7	7	5	12	20	10	5	10	5	14	12
Number of crew		25	33	29	31	33	26	35	25	30	31	30	30	30
Fishing days		41	39	30	31	32	34	37	32	37	22	28	20	17
Relative value		1.34	1.32	1.30	1.25	1.25	1.11	1.06	.99	.76	.74	.69	.56	.41

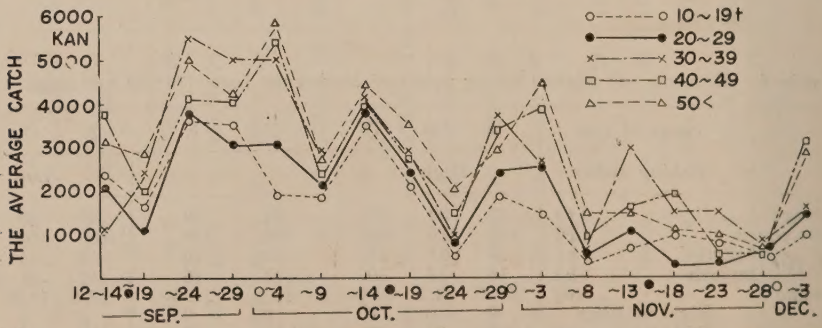


Fig. 2. The average catches of each tonnage class in the fishing season from Sep. 12 to Dec. 3, 1955

Note: 1) The average catch is expressed by the same treatment in the note of Table 1
2) The abbreiations adopted under the abscissa are as fellows

● : new moon ○ : full moon

カサゴ類の鱗の研究—I.
フサカサゴ上科 Scorpaenicae に見られる円鱗について

小林久雄
（愛知学芸大学生物学教室）

Studies on the Scales of Scorpaenoid Fishes——I.
On the Cycloid Scales Found in Scorpaenicae

Hisao Kobayasi
(Department of Biology, Aiti Gakugei University)

Cycloid scales found in Scorpaenoid fishes and the phylogenetical significance of their existence are studied in this paper. Scorpaenicae has both scaled and scaleless fishes, and the scale character of the former is, when compared, quite different from that of the fishes of the other super-families in Order Cottida, distinctly showing the characteristic as a super-family. There are three groups in scaled Scorpaenicae, which are fishes with cycloid only, fishes with both cycloid and ctenoid, and those with ctenoid only. When they have both ctenoid and cycloid, though, most of their scales on the body are ctenoid, while cycloid remain only in a part of the body, e. g., on the breast or belly. Judging from the fact that cycloid scales remain like this and the existing condition of specialization or degeneration of the structure, the author believes that one side or the evolution of Scorpaenoid fishes can be presumed. And when the existence and structure of these cycloid scales are referred to the suggested generalogical tree by Dr. Matsubara, K. (1955), both generally correspond with each other, except that they do not in a part alone where, e. g., Genus *Apistus* is regarded as a branch of *Cocotropus*-stem.

緒言

フサカサゴ上科 Scorpaenicae は松原 (1959) の新らしい分類に従うと，フサカサゴ科 Scorpaenidae，ハオコゼ科 Congiopodidae 及びオニオコゼ科 Synanceiidae の3科から成立する。このうちオニオコゼ科は無鱗であり，ハオコゼ科は鱗の退化の傾向が強く無鱗の属種を含み，有鱗のものも退化的の円鱗である。フサカサゴ科は6つの亜科から成立するが，その代表的の鱗は櫛鱗で，体の一部に円鱗を所持しているものを含んでいる。即ち全体的に見るとフサカサゴ上科魚は円・櫛鱗を共に持つが，その代表的のものは櫛鱗であり僅かに円鱗を散見するといえよう。松原もこの部類の魚類の検索に鱗相を取りいれておられるし，鱗相がこの部類の魚の分類に相当重要性をもつことを暗示しておられるようである。本論文はこの円鱗の所持者と，その存在の意義を考察せんとするもので，本文に入るに先立ちその研究資料を著者に無条件で提供せられた京都大学の松原喜代松博士と，材料蒐集に協力せられた落合明，三谷文夫両氏等に対し深甚なる感謝の意を表する次第である。

観察結果

(1) *タケノコメバル*, *Sebastes oblongus* Günther（フサカサゴ科，メバル亜科）

体の大部分の鱗は櫛鱗であるが，腹面に不規則形の退化的の円鱗をもつている。この円鱗には ridge のみのものもあるが，少数の basal groove をそれに付加したものもあり，その大きさも大小不規則で，apical ridge が肥厚し，頂点付近では退化し切断せられている。

1957 年 11 月 12 日受理

(2) アカブチムラソイ, *Sebastes pachycephalus chalcogrammus* Matsubara (同上)

前種と同様大部分の鱗は櫛鱗であるが, 胸部のものは円鱗で, 形は不規則で, 少数の basal 並に basilateral groove と ridge をもつ長形の鱗で, focus はやや後方に存在し, 縦に長く, basal 並に lateral ridge は辺縁に平行し密接するが, lateral ridge の後端は肥厚し apical area に入るや退化切断せられ点状となつ

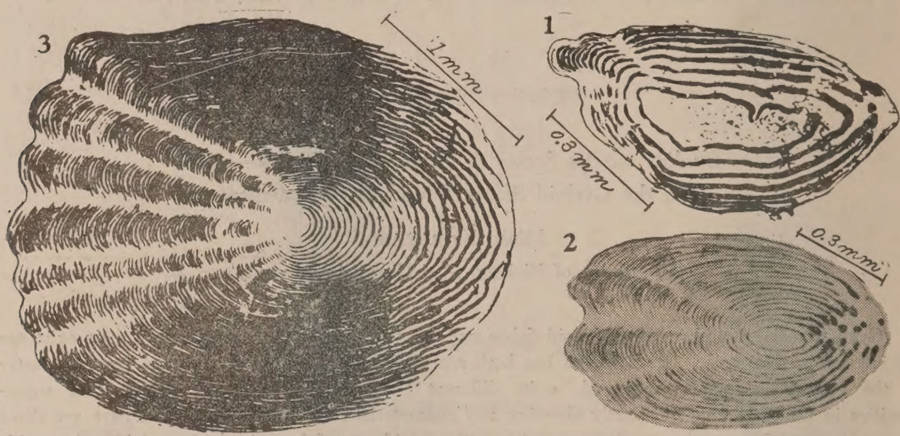


Fig. 1. (1) Scale of *Sebastes oblongus* Günther, 12cm in body length, taken from breast; (2) Scale of *Sebastes pachycephalus chalcogrammus* Matsubara, 9cm in body length, taken from breast; (3) Scale of *Setarches fidjiensis* Günther, 16.5cm in body length, taken from center of body side.

ている。

(3) シロカサゴ, *Setarches fidjiensis* Günther (フサカサゴ科, シロカサゴ亜科)

本種の鱗はすべて純然たる円鱗で, その形は楕円形で, 長さは常に巾より大きく, focus は中央よりやや前方にあつて, 少数の basal groove をもち, groove の前端部が凹むため basal margin は波状を呈する。尾柄側面の鱗には groove の皆無のものを含んでいる。Ridgeはすべての area にあつて, focal ridge の第一輪はかなり大きく, apical ridge は頂点付近でやや退化的である。

(4) イソカサゴ, *Scorpaenodes littoralis* (Tanaka) (フサカサゴ科, フサカサゴ亜科)

本種の鱗は大部分が典型的の櫛鱗で, 科の代表的の鱗である。その全形はハゼ科型 Gobiidae type のものに似ているが, 多数の棘がやすりめ型 Rasp type の排列をしているのでこれと異る。ところが腹面には棘のない鱗をもち, この円鱗は長形で, apical area に ridge を欠き, 少数の basal groove をもち, basal 並にlateral ridge をもつが lateral ridge は後方に進むに従つてその数を減少し, しかも太さを増して, apical area に入ろうとするところで消失している。Basal margin は波形を呈するが他の辺縁は円滑である。

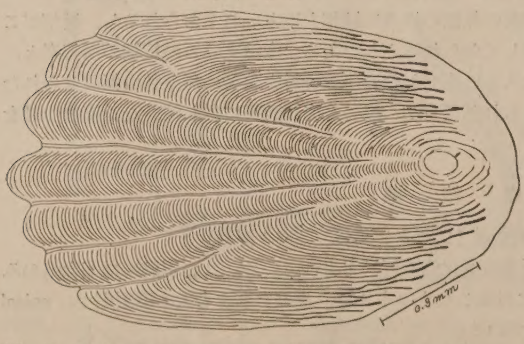


Fig. 2. Scale of *Scorpaenodes littoralis* (Tanaka), 4.5cm in body length, taken from belly.

(5) オニオコゼ, *Scorpaenopsis cirrhosa* (Thunberg) (同上)

本種の主な鱗はフサカサゴ中の異例で, apical margin に1列の棘をもつたハゼ科型の鱗であるが, 胸部には円鱗を残している。この円鱗はサケ科型 Salmonidae type の極めて単純なもので, 縦に長い楕円形で, groove を全欠し, focus はほぼ中央か又は少しく後方にあつて, apical area の後部の ridge がやや退化をきたしている。即ちサケ科の鱗と全



Fig. 3. Scale of *Scorparncpsis cirrhosa* (THUNBERG). 4.8cm in boby length, taken from breast.

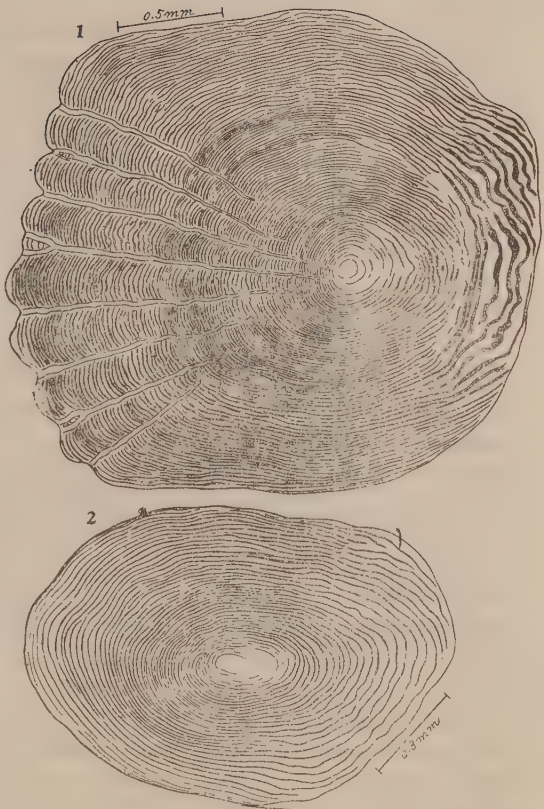


Fig. 4. Scales of *Pterois lunulata* TEMMINCK et SCHLEGEL, (1) 11cm in body length, taken from center of body side, (2) do, taken from breast.

く区別ができかねる。

(6) ミノカサゴ *Pterois lunulata* TEMMINCK et SCHLEGEL（フサカサゴ科，ミノカサゴ亜科）

本種の鱗は全部完全な円鱗である。その形は半円乃至楕円形で，basal groove のみをもち，その数は 11cm の魚の もので 体側中央部鱗に 8 (6—10)，尾柄側面鱗に 10 (7—12)，胸部鱗に 3 (0—5)，即ち胸部のものには groove を欠くサケ科型のものを少数含んでいる。Focus は中央より少しく後方にあつて，basal groove は波状をなす。Ridge はすべての area にあつて，apical ridge は肥厚し，殊に周辺部のものは著しく太くなつている。そして多少退化的で広間隔に排列する。胸部鱗も楕円形で focus は殆んど中央か又はそのすぐ後方に位置する。

(7) ナガハチオコゼ，*Neocentropogon aeglefinus japonicus* MATSUBARA（ハオコゼ科）

本種の鱗も全くの円鱗である。ほぼ卵形を呈し後方に多少尖つている。Basal margin は大きく波打ち，この波は lateral margin の前部にまで及ぶことがある。Focus は中心よりやや後方にあつて，groove は basal groove と時々少数の basilateral groove をもつている。Groove は極めて巾が広いがその輪部は不明瞭で，擬溝条 Pseudo-groove をなしている。少数の supplementary groove をも形成する。Groove の数は 9.5cm の魚のもので体側中央鱗に 5 (4—7)，尾柄側面鱗に 4 (2—7) を数えた。Ridge は，laeral ridge は apical area に入るや急に太さを増しその最後端は著しく肥厚して直ちに消失し，この肥厚したものの外 apical ridge を欠いている。Focal ridge の 1—2 本は真円を描

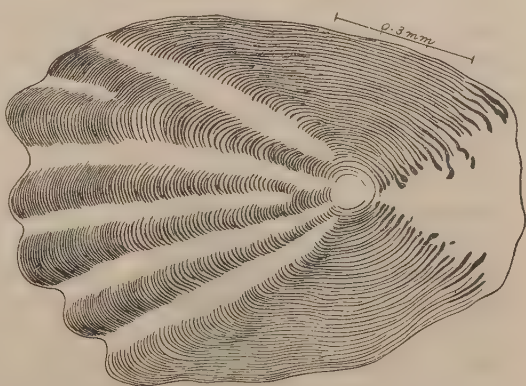


Fig. 5. Scales of *Neocentropogon aeglefinnus jopocicus* MATSUBARA, 10.3cm in body length, taken from center of body side.

いている。

(8) ハオコゼ, *Hypodytes rubripinnis* (TEMMINCK et SCHLEGEL) (同上)

本種の鱗も円鱗である。円形乃至楕円形を呈し, focus は中央より僅かに後方にある。Groove は basal と少数の basilateral groove をもち, 各 groove は多少波状をなし, その輪郭は明瞭で, その数は 4.3cm の魚の体側中央鱗に 5 (3—6) を数えた。Basal margin は大きく波形を呈する。Focal ridge の 1,2 本は真円を描き, lateral ridge は apical area に入ると急に肥厚し, その後端部は円形をなして消失する。この後端肥厚部より後方の apical area には ridge を欠く。



Fig. 6. Scale of *Hypodytes rubripinnis* (TEMMINCK et SCHLEGEL), 4.3cm in body length, taken from center of body side.

考　　察

松原[4] はその著「魚類の形態と検索」の第二巻 (p. 1865) にカサゴ類をその比較形態にもとづいて, フサカサゴ上科 Scorpaenicae 中の重要な属の推定系統樹を掲げている (これは同氏の 1943 年発表のもの[3] を改変せられたもの)。これに従うとメバル幹 *Sebastes* stem, フサカサゴ幹 *Scorpaena* stem 及びカゴシマオコゼ幹 *Cocotropus* stem の 3 大系統を認め, 各幹に属する属の系統進化の関係を示している。鱗学的にこれを見ても大体はこの系統樹の考えに一致するようである。櫛鱗が円鱗より後からできた形態であるとする前提のもとにこの上科の各属のことに思い致して見よう。まずメバル幹で松原が最も特化していると考えたヒレナガカサゴ属 *Neosebastes* は全くの櫛鱗魚であり, ヒレナガカサゴ亜科 Neosebastinae を形成しており, 次に同幹のメバル亜科 Sebastinae 中のメバル属 *Sebastes* の胸部に円鱗を見出したが, 無論この魚の大部分の鱗は櫛鱗である。そして同亜科の他の属魚にも将来円鱗発見の可能性があると思われる。フサカサゴ幹中で松原が最も特化したと考えられたヒメキチヂ亜科 Plecogeninae とキチヂ亜科 Sebastolobinae は全くの櫛鱗魚であることは意義深いことである。又特化の著しいと云われるシロカサゴ亜科 Setarchinae のシロカサゴ属 *Setarches* は全くの円鱗であるが, basal groove をもつ点でサケ科型の円鱗よりも特化した形態と云えよう。フサカサゴ亜科中で特化したグループと云われるハチ亜科 Apistinae を形成するハチ属 *Apistis* の鱗はペン形を呈した櫛鱗で, この点で全く独特のもので, フサカサゴ科内の魚としてもこの部類は全く別系統の感があり, 松原がカゴシマオコゼ幹から分枝したと考えることに対し, 鱗の方面からは多大の疑問を残している。このことは後に櫛鱗を考察する時に再度検討したいと考える。同科のミノカサゴ亜科中 Pteroinae 中のミノカサゴ属 *Pterois* は全くの円鱗魚であり, も一つこのフサカサゴ幹中の大亜科フサカサゴ亜科 Scorpaeninae はその大部分の鱗は櫛鱗に分化しているが, 一部原始形の円鱗として残つている。カゴシマオコゼ幹の魚には鱗の退化が顕著でオニオコゼ亜科 Synanceiidae の諸属は鱗を全欠し, 同じくハオコゼ科 Congiopodidae にも退化の傾向が強く, ハチオコゼ属 *Ocosia* は鱗を全欠するがナガハチオコゼ属 *Neocentropogon* とハオコゼ属 *Hypodytes* には退化的の円鱗を残している。又同亜科のアブオコゼ *Erisphex* と, 松原が特化したものゝ一つと考えるカゴシマオコゼ属 *Cocotropus* の皮膚には突起内に棘状物として僅かに鱗質を残存している状態で, 退化の一途をたどつているものと考える。

鱗相を比較研究して見ると本上科の鱗はカジカ目 Cottina 中の他の上科 (即アイナメ・カジカ・トクビレ・ボウボウの各上科) のものと全く異つた独自の形態をもち, これを総括してカサゴ上科とした分類は鱗学的に見ても誠に意義の深いものと考えられる。又フサカサゴ科には全々円鱗のままになつているグループと円鱗を僅かに残存し, 他の殆んど鱗が櫛鱗に進化しているグループと, 更に全く鱗を退化した属種を含み, ハオコゼ科に至つて一部のものが円鱗としてやや進んだが他は退化の傾向を示し, 全く無鱗状態となつたものがあり, オニオコゼ科で遂に全く無鱗となつてしまつたと云うことができる。

鱗の個体発生の事実から推定して, 円鱗のうちでもサケ科型鱗がもつとも原始的で, これに僅数の groove を発達したものがやや進んだもので, 更に棘を生じて櫛鱗となると云う, 鱗の系統発生から考察すると, フサカサゴ上科内の魚類で, この仮説をもととして, 鱗の進化と退化の状態を見ることができて誠に興味の深

い部類と云わねばならぬ。しかし著者のこの類の研究は尚途中であり，今後尚新らしい事実が追加されるに及んで再び論ずる予定である。

要　　約

(1) フサカサゴ上科 Scorpaenicae の魚類には有鱗魚と無鱗魚を含む。

(2) 有鱗魚には円鱗のみの所持者と，円・櫛鱗の両方をもつものと，櫛鱗のみの所持者の別がある。

(3) 円・櫛鱗の両方を併有する場合，その殆んど大部分の鱗は櫛鱗で，円鱗は僅かに体の一部に残存しているのみである。

(4) 円鱗の残存，特化又は退化の現状と，櫛鱗の発達の程度からカサゴ類の進化の一端をうかがい知ることができると信じられる。

(5) フサカサゴ上科の鱗相はカジカ目中他の上科のものと比較して全く異り，上科としての特色を充分示している。

(6) 鱗学的に考察したこの部類の魚の系統関係は松原の創設した推定系統樹と大局的には一致するが，一部分合致しないところがある。

文　　献

1) 小林久雄，1950：魚類の構造に関する術語について．魚雑.，**1** (3)，pp. 175—181.

2) 小林久雄，1951：魚類の類縁考察資料としての鱗相の価値．魚雑.，**1** (4)，pp. 226—237.

3) Matsubara, K., 1943: Studies on the Scorpaenoid Fishes of Japan. *Trans. Sigenkagaku Kenkyusyo*, No. 1 & 2.

4) 松原喜代松，1955：魚類の形態と検索．第2巻，pp. 1040—1179，石崎書店.

5) 小林久雄，1958：魚類の鱗の比較形態と検索．愛知学芸大研報，**7** 特輯号，pp. 1—104.

Early Development of the Mud-Skipper, *Periophthalmus cantonensis* (OSBECK).

Masao KIMURA
(Dept. of Fishery, Fac. of Agriculture, Univ. of Miyazaki, Japan.)

Widely distributed as far as Africa, the mud-skipper has drawn attention of many researchers. Yet nothing is known of its earlier development.

The present paper deals with artificial insemination and developmental changes up to hatching. The author's hearty thanks are due to Professor A. TERAO for supervision during the course of the study.

Material and Methods.

The spawning season appears to last from late May to late August in the neighborhood of Miyazaki City, although actual egg-laying has not yet been seen.

A number of specimens of both sexes were obtained on Aug. 5th 1957 near the estuary of the Ooyodo River which runs through the city. They were brought to laboratory of the Dept. of Fishery and kept in a wooden box (52×37 cm. and 24 cm. in height) lined with a sheet of water-tight vinyl compound.

A mixture of two-thirds of off-shore sea-water and one-third of distilled water was poured in it up to three cm in depth and a stone of a fist-size was placed in the middle for facillitating the fish to temporarily hop on it. The fish was exclusively fed on the oligochaete, *Limnodrilus*.

Intra-peritoneal administration of two fresh cerebral hypophyses from the frog, *Rana nigromaculatus*, was done for each of a lot consisting of four females toward the evening of Aug. 5 th. These were separated from the others and kept in a glass vessel containing the same mixture of fluids as mentioned above.

Swelling of abdominal region became remarkable in one of the four on the morning of Aug. 7 th. The region was very elastic when pressed with the fingers. In the afternoon the swelling receded, although the tenderness persisted. On the other hand the other three remained tough in the region up to this date. All of the four were dissected toward the evening of the same day. The individual with once-swollen abdomen was found furnished with degenerated ovary which was filled with disintegrated yolk masses. The other three had compact immature ovary.

The failure to spawn may be taken as another case as tested by BORODIN for the sturgeon, *Acipenser*. The males and females of the sturgeon could be brought to sexal maturity only when placed in the same pond, irrespective of separate encagement.

An attempt to induce sexual maturity was made by keeping a second lot consisting of three females which had been fed on the oligochaete since Aug. 5th and submitted to the same procedure of hormonal administration around noon of Aug. 7th together with seve-

Received Nov. 15, 1957

ral males in the same wooden box.

On the day following (Aug. 8th) two of them were dead. But one female survived, keeping on remarkable increase of the trunk volume. On Aug. 12th this female was squeezed to yield a bunch of ripe ova.

On the other hand, two males were chosen for dissection. The contents of their testes were put in physiological salt solution. Sperm suspension thus obtained was used for artificial insemination.

Fertilization and subsequent developmental changes issued normally, since almost all ova proved ripe.

Preliminary observation on this lot under microscope was done to mark such and such precise developmental stages, although temperature control was not strict.

In an attempt to ascertain time required to reach respective stages as much exactly as possible, temperature control was done by using a glass vessel which held the fish and the mixture of sea-water and distilled water and was surrounded by running water whose temperature ranged from 25.2° to 26.1°C. A third lot consisting of two females and several males obtained on Aug. 24th from the already mentioned locality was used for this purpose. One of the two females fresh from the estuary but without hormonal treatment delivered mostly immature but also a few mature ova when squeezed. Artificial insemination was conducted for the ripe ova with sperm suspension got from the males which had been brought to the laboratory on the same day. Development normally went on in the glass vessel mentioned above. Examination of the material was now done by dipping a magnifying apparatus in water of the vessel with a view to time respective developmental stages.

Observation.

Ovum. It is non-spherical, measuring 0.38×0.53 mm on the average before fertilization (Fig. 1, *A*). It is furnished with a batch of slender tendrils at one end of short axis as is the case with that of *Parioglossus taeniatus* REGAN (DÔTU, 1956)[3]. The ovum attains 0.40×0.61 mm. in size 30 minutes after insemination but shortly before the first cleavage, however, its long axis being now situated at right angles to the former one. This axiality is maintained later on.

Cleavage. The first cleavage is completed 55 minutes after fertilization (Fig. 1, *B*). The second is finished one hour and 35 minutes after the start (Fig. 1, *C*). The chorion attains a size 0.61×0.76 mm at this time, and this size is maintained almost constant later on until a very slight increase is observable in much later stages.

Remarkably enough the blastomeres thus occurred are large, like the corresponding ones of other gobioid fishes (DÔTU 1955, '56),[1)2)3)] (DÔTU and MITO)[4)5)].

The third cleavage (Fig. 1, *D*) is completed at a time one hour and 55 minutes, the fourth at two hours and 15 minutes, and the fifth at two hours and 35 minutes after the fertilization at the temperature already referred to. Speed of cell division against time in hours is plotted in Fig. 2. It is to be seen almost linear in ascent but a little steeper from the second to fifth cleavages. Possibly this trend may be looked upon as representing an

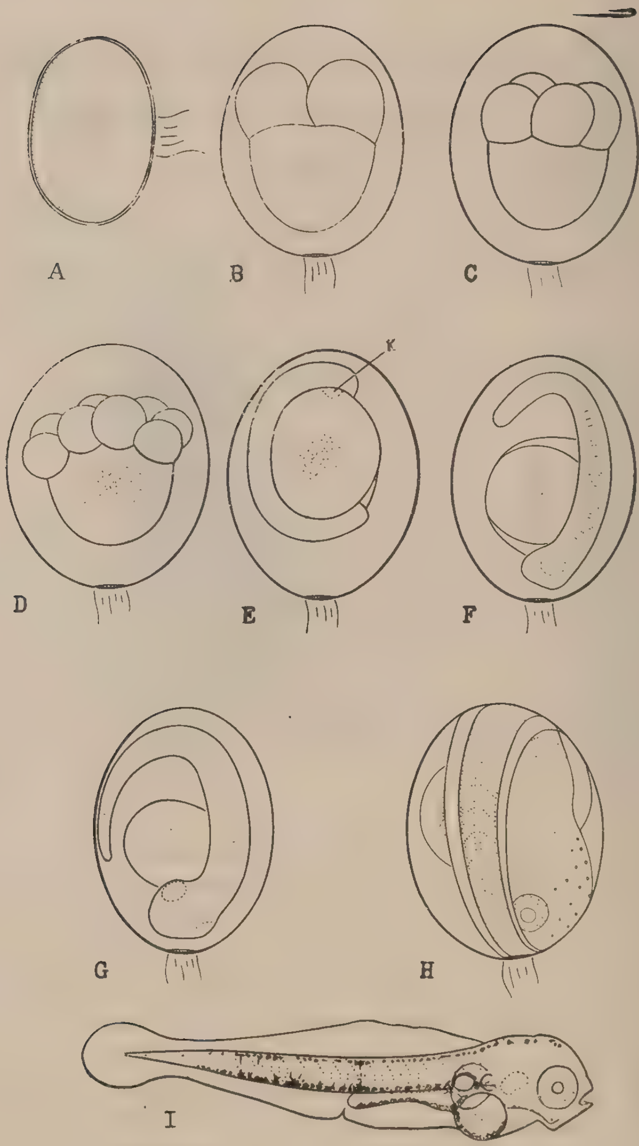


Fig. 1. Ovum and developmental stages of *Periophthalmus cantonensis* *A*, ovum ; *B*, two-cell stage ; *C*, four-cell stage ; *D*, eight-cell stage ; *E*, embryo with Kuppfer's vesicle (*K*) ; *F*, with distinctly beating heart ; *G*, with elongated tail ; *H*, with hatcing glands on back of trunk and head ; *A*~*H*, ca. ×50; *I*, hatched fry, ca. ×35.

early part of logistic one.

Blastoderm. The blastoderm grows nearly the same in size as the yolk at a time 3 hours 16 minutes. A lapse of 9 hours brings the blastoderm to cover about 4/5 of the

yolk.

Embryo. About three-fourths of the yolk are hugged by the coiling embryo (Fig.1, *E*) at a time 17 hours after fertilization. Kuppfer's vesicle (*K*) is clearly seen at this stage. The chorion is greatly enlarged, 0.65×0.81 mm,. at a time 24 hours and 10 minutes when the posterior half is freed from coilling and the whole embryo is capable of snaky movement. The heart is now distinctly seen and beating regularly (Fig. 1, *F*). The tail is elongated at 43 hours 20 minutes (Fig. 1, *G*), and both the anterior and posterior halves of the embryo are moving vigorously. The pigments each consisting of black and reddish elements are now seen all over the body. Hatching glands appear on the back of trunk and head (Fig. 1, *H*).

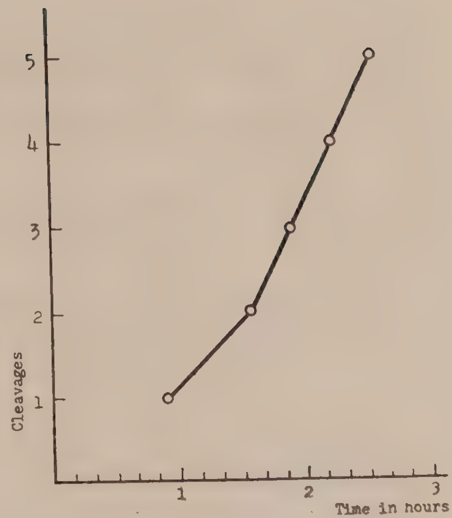


Fig. 2. Speed of cell division of the fish against time in hours.

Hatching. Fissure of the chorion is now seen from head to dorsal of the embryo. Act of getting out of it is completed almost instantly, nearly two seconds in all. The fry begins to bend the tail this way or that within the chorion. Taking advantage of the fissure of the chorin the tail then protrudes exteriorly. As soon as out comes the trunk, flapping of the tail expels the whole body to the exterior. Hatching takes place 104 hours after fertilization (Fig. 1, *I*).

References

1) DOTU, Y 1955: Life history of a goby, *Gobius paecilichthys.* (in Japanese, with English résumé.) *Sci. Bull. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, **15**.

2) ——— 1955: On the life history of a gobioid fish, *Eutaeniichthys gilli.* (in Japanese, with English résumé.) *Bull. Biogeogr. Soc. Japan*, **16—19**.

3) ——— 1956: The life history of an eleotrid goby, *Parioglosus taeniatus* (in Japanese, with English résumé.) *Sci. Bull. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, **15**.

4) ——— and Mito, S. 1955: Life history of a gobioid fish, *Sicydium japonicum. Ibid.* : **15**

5) ——— and ——— 1955: On the breeding-habits, larvae and young of a goby, *Acanthogobius flavimanus* (in Japanese, with English résumé.) *Japanese Jour. Ichthyology*, **4**.

養殖マス類の人工採卵改善に関する研究—I. 人工受精に及ぼす潰卵の影響と洗卵法について

稲葉伝三郎・野村 稔・富永 健
(東京水産大学)

Studies on the Improvement of Artificial Propagation in Trout Culture—I. On the Interference of the Broken Eggs and the Effect of Egg Washing Method

Densaburo INABA, Minoru NOMURA and Ken TOMINAGA

It is very difficult to extrude the eggs from the ripe female without breaking some of them during the artificial fertilization of the trout cultured. It is known by the culturist that the broken eggs in any amount will seriously interfere with fertilization. To prevent it the following method was devised ; the eggs are extruded on the net receiver and washed by the isotonic salt solution from the shower bath (disolved NaCl 55.05 g., KCl 1.97 g. and $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 3.14 g. in 7.5 *l.* water). The eggs are poured into the pan which contained a small quantity of isotonic salt solution and fertilized in the same manner as the usual dry method. We designate it "Egg washing method" for convenience.

The authors studied the interference of the broken eggs in the fertilization of rainbow trout eggs and compared the number of eyed eggs obtained between the dry method and the egg washing method. The results obtained are as follows:

1) When more than 25 broken eggs were contained in 100 cc. coelomic fluid, all the sperm coagulated and did not move.

2) No eyed eggs were obtained when the broken eggs were present at the rate of 3 % in the normal stripped eggs. In order to obtain above 80 % of eyed eggs, the number of broken eggs should be less than about 0.15 % in the normal eggs (Fig. 1 and Table 1).

3) The egg washing method is more useful than the dry method in the fertilization of trout eggs when broken eggs are present among the stripped eggs (Tables 2 and 3).

天然産サケ・マスの人工受精は，卵と精子が健全であれば，100 % に近い受精率をうることができる[1]。しかし，池中養殖のマス類の人工受精では，発眼率は低く，筆者らの調べでは，1950 年からの 5 年間，4 つの養鱒場におけるニジマスとカワマスの発眼率は 48.9～83.1 %，平均 64.7 % を示している。この原因は種々考えられるが，採卵時に潰卵が混入すると，発眼率が著しく低下することが知られている[2)3)]。筆者らは，1953 年以降，養殖マス類の人工採卵の改善について各種の実験を試み，潰卵の影響を平衡食塩水で卵を洗滌して取除けば，発眼率が良好となり，実際に各地孵化場で用いても 80 % 以上の発眼率を示すようになつたので，それらの結果を報告する[4)5)]。

本実験に当り御援助を給わつた長野水指谷崎正生所長，東京水試奥多摩分場大内茂前分場長，本学大泉実習場植松善次郎氏および各場職員に厚くお礼申上げる。

実験方法および結果　1. 潰卵の精子に対する影響　潰卵，血液などの混入しない体腔液中に，卵を潰して各種の割合に混ぜて，その体腔液をスライド上にとつた精液に加え精子の状態を 3～4 年魚のニジマスについて調べた。体腔液 100 cc 中に潰卵が 25 粒以上混入する場合には，精子の殆んどは互に連結して凝固し，活動は全くみられなかつた。潰卵数 25～15 粒では，極く短時間，僅少の精子が活動した後，凝固状態を示した。潰卵の混入数が更に少くなるに従つて，精子の活動数および活動時間は増してくる。凝固状

1957 年 12 月 4 日受理

態となつた精液に等調リンゲル液や体腔液を加えても，何らの変化も起さない。等調リンゲル液を用いて同様の実験を行つても同じ結果であつた。採卵時に出される体腔液の量は，個体によつて著しい差があり，奥多摩分場産ニジマス2年魚7尾では，1尾当り 16～100 cc，平均 44.7 cc，大泉実習場産カワマス 3年魚4尾では 3.8～20 cc，平均 13.5 cc であつた。長野水指産ニジマス 3～4 年魚 28 尾では1尾当り6～100 cc，平均 42.6 cc であり，体腔液 100 cc 中の潰卵数が 15 粒以上の割合で混入していた個体数は 8 尾であつて，全体の 28.5％ になる。

2. 潰卵と発眼率 同一年令のニジマスより潰卵の混入しないように搾出した卵に，潰卵を種々の割合に混入してその発眼率を調べた（Table 1，Fig. 1）。

Table 1. Number of eyed eggs obtained when broken eggs are mixed with normal eggs in different proportions. (by the dry method).

Repeat	Total no. of eggs	No. of broken eggs mixed (%)	No. of eyed eggs (%)
1	183	0 (0.00)	171 (93.4)
	182	1 (0.55)	68 (37.4)
	179	2 (1.10)	20 (11.2)
	180	3 (1.65)	14 (7.8)
	180	4 (2.20)	8 (4.4)
	200	5 (2.50)	4 (2.0)
	173	6 (3.45)	12 (6.9)
	220	7 (3.20)	0 (0.0)
	171	8 (4.70)	0 (0.0)
	187	9 (4.80)	0 (0.0)
2	262	0 (0.00)	212 (80.9)
	218	1 (0.45)	52 (23.8)
	208	2 (0.95)	30 (14.4)
	244	3 (1.25)	17 (7.0)
	195	4 (2.05)	6 (3.0)
	161	5 (3.10)	0 (0.0)
	211	6 (2.85)	0 (0.0)
	182	7 (3.85)	0 (0.0)
	174	8 (4.60)	0 (0.0)
	189	9 (4.75)	0 (0.0)
3	125	0 (0.00)	81 (64.8)
	142	1 (0.70)	12 (8.5)
	134	2 (2.25)	6 (4.5)
	157	3 (3.20)	2 (1.3)
	182	4 (3.85)	8 (4.4)
	158	5 (5.70)	0 (0.0)
4	431	0 (0.00)	409 (94.9)
	1,486	1 (0.07)	1,409 (94.8)
	1,339	1 (0.08)	1,202 (89.8)
	889	1 (0.10)	809 (91.0)
	606	1 (0.15)	544 (89.8)
	404	1 (0.25)	217 (53.7)

正常卵に対する潰卵の混入率が増加するに従い，発眼率が急激に低下し，混入率が約3％以上では発眼卵は殆んど得られない。1.2％では発眼率は 10 ％ 以下であり，発眼率が 80 ％以上を保つには，潰卵混入率が約 0.15％ 以下でなくてはならないことになる（Fig. 1）。

長野水指産ニジマス 3～4 年魚 28 尾についての潰卵数は，1尾当り 0～10 粒（潰卵混入率 0～0.43％），平均 4.6 粒（0.17％）であつた。発眼率 80％ 以下（潰卵混入率 0.15％以上）を示すと考えられるものは 28 尾中 17 尾（約 60 ％）の多数にのぼり，全採卵数に対し 60～65％ の発眼率しか示されないことになる。

この潰卵数は，受精後淡水を加えて過剰の精液を洗う時に調べた卵膜数であつたから，採卵時しばしば搾出される“過熟卵”を含む場合や実際の潰卵数は更に上まわるものと思われる。

3. 発眼率に対する乾導法と洗卵法の比較

イ）上記のように潰卵が僅か混入しても発眼率が著しく低下するので，採卵時に混入した潰卵の影響を除くため次のような方法を試み，これを洗卵法と呼ぶことゝした。親魚 1～2 尾分の卵を，網で作つた卵受けにとり，体腔液等を自然落下させて，シャワー装置で洗卵液*（山本の平衡食塩水）[1] を流下させながら羽帚などで卵を静かにかきまぜ洗卵を行い，その後採卵盆中で少量の洗卵液とともに媒精する。この方法の効果を知るため，在来の乾導法との発眼率の比較を行つた。3 尾のニジマス親魚より得た卵を均一に混じて3区に分け（各区 1000～2000 粒），1 区は対照として潰卵を加えず，他の 2 区には潰卵をそれぞれ 10 粒，40 粒加えた後，各区を更に 2 分して，乾導法と洗卵法によつて受精し，その発眼率を比較した（Table2）。潰卵を混入した場合は，洗卵法の方が乾導法より明らかに良好な発眼率を示し，洗卵法が潰卵混入による発眼率の低下を防ぐに有効であつた。潰卵の混入割合が高い場合には，数回洗卵を繰返すとよい。

ロ）長野水指，東京水試奥多摩分場，日光養魚場および富士養鱒場において，実際のニジマスの人工採卵に際し，多量の卵を用いて乾導法と洗卵法との比較を試みている[4)5)6)]。これらの資料を纏めたのが Table 3 である。

* 1 l の用水に NaCl 55.05 g，KCl 1.97 g，$CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 3.14 g を順次溶解し，これを 7～8 倍に稀釈して使用すればよい。洗卵液は 1 l 3円位になる。

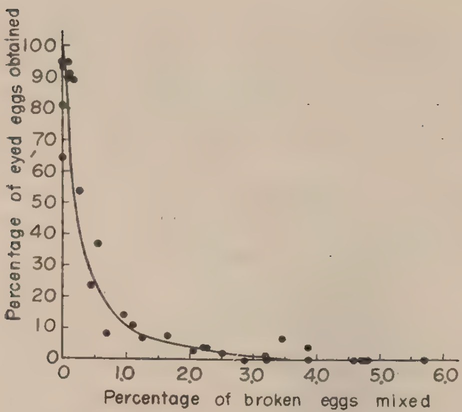


Fig. 1. Relation between percentages of eyed eggs obtained and of broken eggs mixed into normal eggs.

χ^2 検定によりこれらを比較してみると，乾導法において，約 85% 以上の良好な発眼率を示した場合は，両者の間には有意の差が認められないものが多く，洗卵法の効果が明らかでなかつた。しかし，乾導法で約 80% 以下の低い発眼率を示した場合にはすべて有意の差があり，明らかに洗卵法が良好な発眼率を示しその効果が認められた。

論　議　サケの人工受精において，田中は体腔液の存否が発眼率に及ぼす影響を調べ，体腔液中で受精した方が発眼率が良かつた場合と，体腔液を除去した方が発眼率が良好であつた場合の 2 つの異つた結論を得ている[7)8)]。これは，潰卵の存在が発眼率を大いに低下させるので，体腔液中に潰卵が存在すれば体腔液を除去して人工受精を行つた方が良い発眼率となるわけであるから，潰卵の混入の有無を考慮しなかつたのではないかと考えられる。

体腔液および等調リンゲル液中では，精子の活動時間は長く又卵の受精可能な時間も長くなるので，体腔液媒精法および等調法の改良法などが提唱されている[1)9)10)11)]。魚体から搾出される体腔液量は個体によつ

Table 2. Survival rates of rainbow trout eggs fertilized by the dry method and egg washing method when broken eggs were mixed.

Repeat	Total no. of eggs	No. of broken eggs mixed (%)	Dry method: No. of eggs examined	Dry method: No. of eyed eggs (%)	Egg washing method: No. of eggs examined	Egg washing method: No. of eyed eggs (%)
1	2042	0 (0.00)	964	880 (91.3)	1078	1024 (93.3)
	1872	10 (0.54)	967	86 (9.1)	905	545 (60.2)
	1654	40 (2.14)	898	3 (0.3)	756	58 (7.7)
2	1434	0 (0.00)	692	651 (94.1)	742	691 (93.1)
	1135	10 (0.88)	501	299 (59.7)	634	606 (95.6)
	1060	40 (3.77)	452	0 (0.0)	608	124 (20.4)
3	1422	0 (0.00)	729	357 (49.0)	693	526 (76.0)
	1669	10 (0.59)	955	148 (15.5)	714	486 (68.1)
	1191	40 (3.35)	728	7 (0.1)	463	35 (7.6)

Table 3. Survival rates of rainbow trout eggs fertilized by the dry method and egg washing method in four trout hatcheries.

Group*	Dry method: No. of eyed eggs (%)	Dry method: No. of un-fertilized eggs	Egg washing meshod: No. of eyed eggs (%)	Egg washing meshod: No. of un-fertilized eggs	χ^2**
1	18567 (86.86)	2728	22268 (92.32)	1983	265.67
2	47714 (72.36)	18225	49266 (78.84)	13223	726.67
3	24009 (77.61)	6926	26225 (84.53)	4800	485.80
4	13895 (95.37)	674	17068 (95.64)	779	2.05
5	14140 (91.82)	1260	11356 (86.03)	1844	235.36
6	11958 (86.03)	1942	14260 (85.70)	2380	0.93
7	17599 (85.60)	2961	23794 (85.99)	3876	1.32

* 1, Akashina Trout Hatchery ; 2 and 3, Irikawa T. H. ; 4, Nikko T. H. ; 5, 6, 7, Fuji T. H.
1, 2, 3, 4 and 6, 3-year-old fish ; 5, 2-year-old ; 7, 4-year-old.

** $\chi_0^2=3.841$ (0.05).

て大きな差があるので，体腔液媒精法においては必要量だけ体腔液を入手することは困難な場合があるし，養殖マス類では潰卵を含まないで採卵することは困難であるので，潰卵の影響はまぬかれない欠点がある。

洗卵法の効果が明瞭に表われない場合があるが（Table 3）[6]，これは乾導法によつても約 85% 以上の良好な発眼率を示した場合である。このように潰卵の混入が殆んどないと考えられる時は，たとえ洗卵法によつても，それ以上の好結果を望めないのは当然であろう。媒精した時，精液の凝固状態を確かめて洗卵法を行うのが効果的である。潰卵の混入により発眼率が低下する原因は明らかでないが，Hartmann ら（'47）はニジマスの未受精卵内に存在する Gynogamone Ⅱ（グロブリン性蛋白）が精子を凝固させることを報告している[12]。グロブリン性蛋白は塩類溶液に溶解するので，洗卵法によつてこの種蛋白が除かれて，発眼率が良くなつたと考えられる。しかし，洗卵法によつても，個体によつては発眼率が 40% 以下の極めて低い場合がしばしばみられるし，茂木はニジマス卵を 0.5～5% の食塩水で洗卵し，1.0～1.5% が適当であり，その他の濃度の食塩水で洗卵した場合には悪い結果を得ている[2]。これらの原因については，今後更に研究を進めて行きたい。

摘　要　養殖マス類の人工受精をする場合に，潰卵を混入させないで採卵することは困難である。潰卵が混入すると精子の活動を阻害し，ひいては発眼率を低下させる。潰卵の混入と発眼率低下の影響を調べ，乾導法と洗卵法による発眼率の比較を試み，ニジマスについて次の結果を得た。

1. 体腔液 100 cc 中潰卵 25 粒以上混入すれば，精子は全く活動せず，凝固状態を示した。
2. 搾出卵数に対する潰卵混入率が約 3 % 以上では発眼卵は全く得られない。発眼率が 80% 以上を示すためには，潰卵混入率が約 0.15% 以下でなくてはならない。
3. 潰卵が混入する場合には，洗卵法が乾導法よりも明らかに良い発眼率を示し，洗卵法が有効である。

文　　献

1) 山本喜一郎：サケ及マスの卵の受精方法に就ての考察，水孵試報 **4**，2 (1949).
2) 茂木喜一郎：食塩水にて洗卵する受精について，水研誌，**32**，11 (1938).
3) Davis, H. S: Culture and Diseases of Game Fishes, Univ. of Calif. press (1953).
4) 長野県水産指導所：ニジマス採卵に関する若干の資料，昭和 30 年 4 月，謄写.
5) 東京都水産試験場：東京水試調査研究要報 V (1956)，謄写.
6) 静岡水試富士養鱒場：31 年度事業報告，謄写.
7) 田中林蔵：新に考案せる鮭鱒人工受精用受卵器に就て，本誌，**4**，4 (1935).
8) ―――：体腔液の存否が鮭・虹鱒卵の受精率に及ぼす影響，水雑，**46** (1940).
9) 山本時男：魚卵の発生生理，初版，東京 (1943).
10) 藤田経信：鱒類の精卵，鮭梁，**3**，4 (1931).
11) 川尻　稔：マスの養殖，水産界，**815** (1952).
12) 柳町隆造：ニシン卵の受精の研究―Ⅳ.，本誌，**23**，2 (1957).

養殖マス類の人工採卵改善に関する研究—II. 精液・卵・体腔液* などの pH

稲葉伝三郎・野村 稔・須山三千三
(東京水産大学)

Studies on the Improvement of Artificial Propagation in Trout Culture—II. On the pH Values of Eggs, Milt, Coelomic Fluid and Others

Densaburo INABA, Minoru NOMURA and Michizo SUYAMA

The pH values of eggs, milt and coelomic fluid of mature rainbow trout were measured with Beckmann pH meter G type and their results were compared with the percentages of eyed eggs obtained by each brood fish. The results obtained are as follows:

1) The pH value of the testis has a tendency to gradually increase its value from the anterior part toward the posterior (Table 1).

2) The pH value of milt varies from 7.84 to 8.14, and averages 8.03 ± 0.05. The pH value of the transparent fluid which is stripped with milt is 6.25 in average, and this fluid coagulates the sperm and stops its movement. Therefore, care should be taken to prevent mixing this fluid into the normal sperm.

3) The sperm moves within the scope of nearly 4.5 to 10.4 in the pH value and its movement tends to be more active in basic range of pH.

4) The pH value of the egg surface is 8.10～8.59, average 8.27 ± 0.80. The pH value of egg content is 6.53～6.68, average 6.63 ± 0.01 (Table 2). The eggs which showed survival rate below 80% appeared only in the pH range below 8.2 for the egg surface (Fig. 2).

5) The pH value of the coelomic fluid is 7.61～8.14 and its value decreases as the number of broken egg in the coelomic fluid increases (Fig. 1).

マス類の人工受精において，等調液で卵を洗つてから受精すると（洗卵法），発眼率が著しく向上することを報告したが，特別な親魚から受精したものでは，極めて低い発眼率を示すことも指摘した[1]。この原因の一つに，このような親魚からえられた精液や卵の生理的特異性や成熟度合などが考えられるが，マス類の精や卵の pH，および pHと受精率については畑[2]，SPEK[3] らの僅かな研究が見られるのみである。

これらの点を明らかにする目的で，著者らは，1956 年 1 月，長野水指において，同所産ニジマスの精液，卵および体腔液などの pH を各親魚別に測定し，あわせてそれらの卵の発眼率との関係を調べたので，その結果を報告する。本実験に際し御便宜を給わつた長野水指谷崎正生所長ならびに所員各位に厚くお礼申し上げる。

材料および方法 精液，未受精卵および体腔液などはニジマスの 3～4 年魚から搾出して，直ちに測定を行つた。精巣の pH 測定には 2 年魚を用いた。卵はすべて洗卵法によつて，同一精液により親魚別に受精して，その発眼率を調べた。pH 測定はベックマン pH メーター G 型により，親魚別に次の要領で行つた。精液と体腔液はガラス電極を直接それら検液に入れて行ない，精巣の pH は精巣を切開し，そこに電極を挿入して測定した。卵表面の pH は未受精卵を用い，表面に附着している体腔液などを濾紙で除いたのち，卵表面に電極を接して測定し，卵内容物については卵表面 pH 測定に使用した卵約 10 粒を潰し，これに電極を入れて測定した。

実験結果 1. 精巣の pH

ニジマスの精巣は，全体が同時に成熟せず，生殖口附近より漸次前方へと成熟することが知られているので[4]，頭部に近い方より前・中・後の 3 部に分け，それらの pH を測定した。その結果を Table 1 に示した。

* 採卵時，卵と共に搾出される液全体を指し，卵が卵胞より離れる時の卵巣液 (ovarian fluid) を含む。

Table 1. pH values of testis and milt of rainbow trout (2-year-old, AKASHINA Trout Hatchery).

No. of fish	pH of testis			pH of milt
	Anterior part	middle part	Posterior part	
1	7.64	7.98	7.94	8.00
2	7.78	7.93	8.04	8.02
3	7.72	7.80	7.97	7.85
4	7.75	7.76	7.76	7.90
5	7.91	7.98	7.94	8.04
Average	7.76 ±0.11	7.89 ±0.12	7.93 ±0.12	7.96 ±0.10

搾出精液ならびに精巣各部の間のpH の平均値の差の検定をした結果，搾出精液と精巣前部との間（t=3.508＞3.355…0.01）および精巣前部と後部との間（t＝2.659＞2.306…0.05）において有意の差が認められ，精巣 pH は前部より後部にいくほど高くなつて，搾出精液に近い pH を示す傾向がみられた。

2. 搾出精液と異物が混入した精液の pH

精液を搾る時，血液，黄色液体および無色透明液体が混入する場合がある。27 尾より採精した結果，精液のみ搾出されたもの 14 尾（52%），精液に血液が混入したもの 3 尾（11%），黄色液体が混入したもの 2 尾（7.5%），無色透明液体が混入したもの 6 尾（22%），および精液が全く搾出されずに無色透明液体のみ搾出されたもの 2 尾（7.5%）であつた。異物の混入しない白色粘着性のある正常精液の pH は 7.84～8.18，平均 8.03 ± 0.05 であり，血液の混入した精液 pH は 8.02～8.13，平均 8.07 ± 0.14 であり，いづれも精子の活動は認められた。黄色液体の混入した精液 pH は 7.77 と 8.08 を示し，pH の低い方では精子の活動はみられなかつた。無色透明液体が混入した精液の pH は 6.66～7.94，平均 7.28 ± 0.53 を示し，その液体の混入量によつて pH 価が異つており，いづれも正常精液の pH より低く，かつ精液は凝固して，精子の活動は認められなかつた。

無色透明液体の pH は 6.16 と 6.34 で，精液の混入物中では最も低い価を示し，この液体中に正常精液を混入すると凝固して精子の活動は認められなかつた。

3. 精子可動の pH 範囲 精子の活動が可能な pH 範囲を，孵化場用水に塩酸，クエン酸および苛性ソーダ，燐酸ソーダ，炭酸ソーダなどで pH を種々調整して調べた。その結果は，pH 約 4.5 で極く少数の精子が短時間活動しはじめ，pH 6 前後で約半数が，pH 約 6.5 以上では全部の精子が活発に活動し，pH 10.4 前後まで精子の動くのが観察された。精子の活動は概してアルカリ性において活潑な傾向があり，その可動 pH 範囲は広いことが知られた。

4. 卵表面と卵内容物の pH 28 尾より搾出した卵について，卵表面と卵内容物の pH の測定を行つた後，その発眼率を調べた結果は Table 2 に示した通りである。卵内容物の pH は弱酸性（6.58～6.68）を示し，個体による変異が殆んどなく，山本ら[5] の測定したメダカや *Fundurus* の卵原形質や卵黄の pH（6.1～6.8）にほぼ一致していた。卵表面 pH は卵内容物 pH に比較してアルカリ性（8.01～8.59）を示し，個体による差がやや大きかつた。

5. 体腔液 pH と潰卵との関係 卵とともに出された体腔液の pH，体腔液量および潰卵数を，採卵魚 28 尾について調べた結果は Table 2 に示した。体腔液 pH は個体により大きな差が認められた(7.61～8.14)。体腔液 pH と体腔液 100 cc 中の潰卵数との関係を示すと Fig. 1 のようになる。体腔液 pH は体腔液中に混入している潰卵数によつて影響され，潰卵数が多いほど，体腔液 pH は低くなる傾向がみられた。人為的に 1/8 M リンゲル液 20 cc 中に未受精卵 10 粒を潰して混ぜると，リンゲル液 pH 7.0 のものは 6.2，pH 8.2 のものは 7.2 と変化し，同 5 粒混ぜた場合は，リンゲル液 pH 7.0 のものは 6.4，pH 8.2 のものは 7.6 と変化して，潰卵によつて体腔液の pH 価が低くなることを実験的にも確かめることができた。

論　　議 採精時に無色透明な液体が精液とともに混入することがある。この液は精液を搾つている間一諸に出てくるものもあれば，採精の初めにこの液体が少量でたのち精液が出てくるもの，および精液が全く出ないで，この液だけが出るものなどがある。この無色透明液体についての詳細は不明であるが，pH は平均 6.21 ± 1.14 で，正常精液（平均 8.03 ± 0.05）や卵内容物（平均 6.63 ± 0.01）の pH よりも低く，精液を凝固させ，かつ精子の活動を停止させる作用がある。この液の pH は，精子の可動範囲内にあるので，pH 以外になにか精子の活動を阻止し，精液を凝固させる原因があるものと考えられる。サケ・マス類の人工受精には，採卵の時に混入する異物は取除くように考慮されているが，採精時の異物の混入はほと

Table 2. pH values of coelomic fluid and eggs, and percentage of eyed eggs obtained.

No of fish	pH value			Amount of coelomic fluid (cc)	No. of broken eggs	Total no. of eggs Stripped	Eyed eggs obtained (%)
	Coelomic fluid	Egg surface	Egg contents				
1	7.94	8.16	6.66	38	9	3,259	3.3
2	7.93	8.26	6.58	38	5	2,368	97.6
3	7.88	8.30	6.58	39	4	3,436	93.2
4	7.84	8.02	6.66	35	10	3,807	92.8
5	7.92	8.05	6.65	58	4	2,305	7.1
6	7.99	8.44	6.60	100	8	2,764	96.3
7	8.14	8.50	6.60	32	0	3,166	95.0
8	7.72	8.37	6.60	78	10	2,470	91.2
9	7.68	8.01	6.59	16	9	3,947	84.0
10	8.08	8.56	6.62	43	1	2,441	96.6
11	8.09	8.22	6.64	42	0	2,203	96.0
12	7.87	8.08	6.63	63	10	4,123	91.9
13	7.94	8.36	6.62	22	0	2,398	83.7
14	7.93	8.56	6.65	65	8	1,841	89.7
15	7.94	8.08	6.65	77	6	2,527	96.3
16	7.85	8.07	6.64	27	8	4,082	85.1
17	7.96	8.47	6.66	35	2	2,502	97.5
18	8.03	8.48	——	37	5	2,459	87.8
19	7.63	8.04	6.65	6	0	1,479	60.5
20	7.81	8.16	6.63	54	10	2,623	31.3
21	8.04	8.57	6.65	28	0	2,244	96.3
22	8.03	8.12	6.68	34	2	2,201	94.8
23	8.14	8.59	6.65	75	0	1,132	95.5
24	7.94	8.27	6.66	38	8	2,708	83.7
25	7.84	8.07	6.63	41	5	3,278	28.8
26	8.11	8.14	6.60	19	0	1,562	96.8
27	7.61	8.23	6.63	13	4	2,695	94.8
28	7.94	8.45	6.61	39	1	3,308	96.3
Average	7.92 ±0.05	8.27 ±0.08	6.63 ±0.01	43	4.6	2,690	80.9 ±10.8

んど注意されないのが一般である。しかし，無色透明な液体は，上記のように精子の活動を停止させるので，人工受精時の採精には，先づ雄魚の腹部を軽く圧してこの液の有無を確かめて，これを混入させない注意が必要である。体腔液の pH は 8 前後であるが，この価は体腔液中に混入した潰卵によつて影響をうける。その変化は潰卵の混入数が増加するに

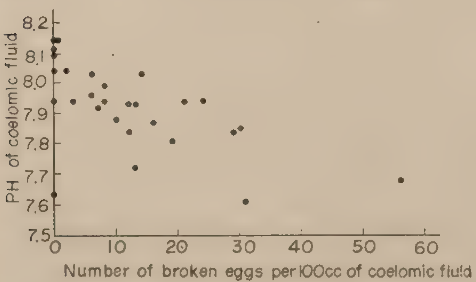


Fig. 1. Relation between pH value and number of broken eggs in coelomic fluid.

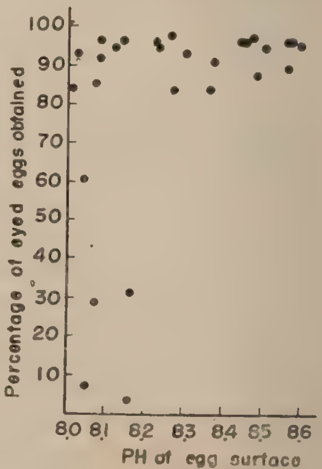


Fig. 2. Relation between pH value of egg surface and percentage of eyed eggs obtained.

つれて，ほぼ直線的に低くなつている（Fig. 1）。体腔液 pH と卵の発眼率との間には，洗卵法によつて卵表面に附着していた体腔液などを除去したために，何らの関係は認められなかつた*。卵内容物 pH は個体による変異は極めて少く(6.58〜6.68)，ほぼ一定の価を示しており，発眼率との間には何らの関係も認めることができない。卵表面 pH は弱アルカリ性で 8.01 より 8.59 を示し，発眼率との間には Fig. 2 のような関係がみられた。すなわち，pH 8.2 以上のものには発眼率 80%以下のものがなく，80%以下の悪い発眼率を示した卵は卵表面 pH 8.2 以下のものであつた。この卵表面 pH の本質的については，更に吟味されねばならないが，SPEK[3)5)] によれば，マス卵においては成熟するにつれて，アルカリ性の表層細胞が卵表面近くに形成されるという。したがつて，卵表面の pH は，卵の成熟度（または採卵適期）に関連し，そのために発眼率と密接な関係をもつようになつたと考えられる。畑[2)] は，種々の pH 液に任意の時間未受精卵を浸した後，受精させ，pH 7 前後において最もよい受精率を得ている。このように未受精卵を液に浸したあとで受精させることは，pH の異つた液の影響よりも，卵の吸水が短時間内で行われ[6)]，受精を不可能にさせるので**，その影響の方が大きく作用しているようにみえる。

また，卵表面 pH が 8.2以上の卵には 80% 以下の発眼率を示したものがなかつたことや，精子の活動がアルカリ性において活潑な傾向があること，精液，体腔液および卵表面は，いづれも pH 8 前後であつたことなどから，現在使用している洗卵液の pH を 8 前後に調整した方が良いと考えられる。

以上のように，精液を凝固し，精子の活動を停止する無色透明液体の諸性質や，卵表面の pH が発眼率に及ぼす関係などについては，更に吟味し究明するつもりである。

文　献

1) 稲葉伝三郎・野村　稔・富永　健：養殖マス類の人工採卵改善に関する研究－I.，本誌 **23** (1958).

2) 畑　久三：鱒卵の受精に及ぼす水素イオン濃度の影響について，水学雑 **35** (1932).

3) Spek, J.: Die bipolare Differenzierung des Protoplasmas des Teleosteer-Eies und ihre Entstehung, Protoplasma, **18** (1933).

4) 藤田経信：鱒類の精卵，鮭彙 3, 4 (1931).

5) 山本時男：魚類の発生生理，東京 (1943).

6) AOKI, K.: Über die Wasseraufnahme der Lachseier I., J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Ser. VI (Zool.). **7**. (1939).

7) Scheuring, L.: Biologische und Physiologische Untersuchungen an Forellensperma, Arch. f. Hydrobiol. Suppl. 4 (1928).

8) YAMAMOTO, K.: Activation of the Egg of the Dog-Salmon by Water and the Associated Phenomena, J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Ser. VI (Zool.) **10** (1951).

---

* 洗卵法を用いない場合の発眼率は，体腔液中に混入した潰卵によつて大きな影響を受けて，著しく低下する（前報）[1)]。

** SCHEURING, L[7)] によるとブラウンマスおよびニジマスの卵は淡水に浸してから5分後，山本[8)] によるとサケ卵では 15 分後では全く受精能力を失つてしまう。

駆集網の色彩の濃さの効果について

草 下 孝 也
（東京大学農学部）

Experiments to see the effect of colour and its depth on the driving net by the centralizing method

Takaya KUSAKA*

The author has done those experiments continously for the former report (Refference 1) which was carried out the effect of colour vinyle cord as a model net on drive to fish.

10 goldfish *Carassius auratus* of an average total length of 3.5 cm. were liberated in a wooden tank of 50 cm. long, 26 cm. wide and 10 cm. water depth. A pair of model nets are prepared which wooden frames are stretched netting of small mesh, except the middle part, because inserting three glass tubes in it, seeing Fig. 1. Observing for effect of colours, there were used red, blue and black inks to fill each glass tube, and for depth of colour, these inks were diluted in 10……1,000 times. The centralizing method was done with repeat of 40 times using all these 11 conditions and in all combinations of two conditions each.

The sum of the total values were given in Table 1. and they were applied the chi-square test of statistics and the visible distance of the glass tubes in the water were given in Table 2.

Even the driving effect is in being of difference by kinds of colours, he recognized superiority and inferiority of the effect according the depth of colour in the same. The visible distance of those glass tubes in the water was coincided with the order of depth of colour, neverthless the colour more visible in the water is not always excellent on the driving effect. As coincide with the result of the former report, the red ink of non-dilution is most excellent on driving effect.

To sum up of those conception, he thinks over that the distinctness with kind and depth of colour is excellent on driving effect.

筆者は魚群を駆集する網の色彩の効果について，既報したが[1] その効果は色彩の濃さによつても異なると考えられるので，今回は赤,青,黒などの色彩について，その濃さをそれぞれ濃，中間，淡の3段階を用意し，これらの条件の模型網に既報の中央駆集法を適用して，駆集効果の相違を検討した

この報告をするにあたり，終始御指導を戴いている東京大学教授檜山義夫博士に深甚の謝意を表する

実 験 材 料 及 方 法

実験魚にはキンギョ *Carassius auratus*（フナ尾和金）10 匹平均全長 3,5 cm を用いた。尚，ヒメダカ *Aplocheilus latipes* 10 匹，平均全長 1.8 cm について予備実験を行なつたが，供試枠の形状がメダカに不適なために，充分な観察ができないので，本実験にはキンギョのみを用いた。

水槽は白色塗木製，長さ 150 cm，巾 26 cm，水深 10 cm のものに仕切りを用いて，長さを 50 cm として実験に供した。

試験する網枠には，白木の角材（2 cm × 1 cm）で木枠（25 cm × 10 cm）をつくり，その中央部の 7.5cm を除いて，左右の側には文字網を張り中央の部分には 2.5 cm 間隔にガラス管（外径 7 mm）3 本を垂直に並べてさしこめるようにしたものを 2 個用意し，試験するガラス管を挿入しては比較観察するようにした。（Fig. 1.）

1957 年 12 月 23 日受理。

* Lecturer: Fisheries Department, Faculty of Agriculture, the University of Tokyo

このガラス管にはインクを満して，色彩実験の供試材料とした。インクにはパイロット製の赤，青，黒のものを用い，更にこれらのインクを適当にうすめて，濃，中間，淡の3段階の濃さのものを1種類について3本づつ用意した。又，ガラス管にインクを入れない中空のものを比較のために用意し，更に対照実験用としてガラス管をはめない木枠のみの状態をとりあげて比較したので，実験の条件は次の 11 種類である。

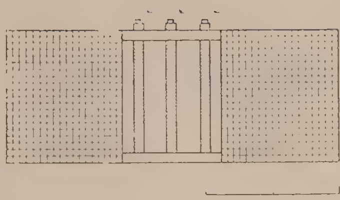


Fig. 1. The test frame (←……The exchangeable glass tubes)

1. 濃赤（普通の赤インクをそのまま用いた。）
2. 中赤（赤インクを 10 倍にうすめた。）
3. 淡赤（赤インクを 100 倍にうすめた。）
4. 濃青（普通の青インクを 10 倍にうすめた。）
5. 中青（青インクを 50 倍にうすめた。）
6. 淡青（青インクを 250 倍にうすめた。）
7. 濃黒（製図用黒インクを 100 倍にうすめた。）
8. 中黒（黒インクを 1000 倍にうすめた。）
9. 真水（真水を満した。）
10. 中空（中空のままのガラス管を用いた。）
11. 管無（ガラス管をはずした木枠のみの状態。）

実験の方法はこれらの中から観察すべきガラス管の2種を選んで，木枠に挿入した各々を水槽の両端に入れて，水槽の中央にむけて，各々を毎秒約 10 cm の速さで移動させ，終には中央で合致させる。水槽内を遊泳する 10 匹のキンギョは初めは木枠に駆集されて中央部に移動するが，やがて木枠のガラス管の間を通りぬけるようになり，終には全個体がどちらかの側に移動しているので，観測には右側に通過した個体数を記録するようにした。同じ組合せの木枠について，各々 40 回繰返し観測し，各回毎に左右の木枠を交換して，水槽の位置の左右差をうちけすようにした。このような方法で， 11 種の条件についての総べての組合せ，即ち，55 通りについて繰返し観察を行なつた。

水槽は室内の南側の窓に平行して設置し，直射日光は遮蔽するようにして，昭和 32 年 9 月 12～20 日，9 時～16 時，水温 21.5～23.0°C，天候晴乃至曇の範囲で実施した。

結果とその検討

観察結果は Table. 1. に示した如く，各々の組合せについての 40 回繰返しの総和を右上に記した。仮に組合せた条件の効果が同一であれば，その期待される数値は 200 : 200 となるべきであるから，この値に或る程度以上の差があれば，2種の供試木枠の効果に差異があると判断できるので，ここにカイ自乗検定を適用すると，繰返し数 N＝40 の場合は，観測値の差が 26, 20, 17 に対して，それぞれ 1, 5, 10% の危険率で有意差を認めることができる。この検定の結果，その危険率を表の左下に示した。

又，一つの木枠と他の木枠との組合せの総べてにおけるその木枠の通過匹数の総和を求めて，最も数値の少ないもの，即ち，駆集効果が大きいとみられるものから順位をつけ，これと対比するために，これらの水中における肉眼による可視距離を求めて順位をつけて，これらを Table. 2. に示した。

これらの結果について，先ず，木枠のみの場合をみるとガラス管を挿入した総べての場合に対して，1% の水準で有意差があり，明らかに駆集効果が異なる。

即ち，ガラス管が約 2.5 cm の間隔に縦に並んだものは網地などと同様に相当た駆集効果をもつているということができる。

次に色の濃さについてみると赤色では濃赤と中赤との間に1%で有意差が見られるが，淡赤のものもふくめて，3者とも駆集順位が上位で，相互間の差は比較的少ないようである。この点は水中可視距離の順位とも合致している。即ち，赤色は駆集効果が大きく，色の濃さでは効果が比較的変らないとみることができる青色では淡青が他の2者に対して1%で有意差をもち，駆集順位も3段階に離れている。淡青は殆んど真水

Table 1. Effects of different frames using different combination with 40 repeatings on each case by the centralizing method

Kind of frame	Frame without tube	Dark red	Middle red	Light red	Dark blue	Middle blue	Light blue	Dark black	Middle black	Fresh water	Hollow tube
Frame without tube		103 297	131 269	110 290	118 282	114 286	140 260	111 289	124 276	115 285	110 290
Dark red	1%		232 168	212 188	233 167	216 184	232 168	224 176	221 179	256 144	246 154
Middle red	1	1		207 193	191 209	207 193	230 170	211 189	194 206	243 157	234 166
Light red	1	—	—		189 211	208 192	219 181	189 211	224 176	228 172	221 179
Dark blue	1	1	—	—		212 188	229 171	208 192	202 198	231 169	226 174
Middle blue	1	—	—	—	—		231 169	212 188	213 187	224 176	210 190
Light blue	1	1	1	10	1	1		187 213	182 218	225 175	189 211
Dark black	1	5	—	—	—	—	—		206 194	228 172	200 200
Middle black	1	5	—	5	—	—	10	—		239 163	210 190
Fresh water	1	1	1	1	1	5	5	1	1		203 197
Hollow tube	1	1	1	5	1	—	—	—	—	—	

The right upper figure: Sum of values for forty experiment, of the fish moved to either side.
The left lower figure: Level of significance (%) of the chi-square test.

Table 2. Orders on the driving effects and visible distance in the water for the frames

Kind of frame	Frame without tube	Dark red	Middle red	Light red	Dark blue	Middle blue	Light blue	Dark black	Middle black	Fresh water	Hollow tube
Sum up of the observed numbers in Table 1.	2000 +824	−369	−154	−149	−177	−133	+98	−92	−81	+184	+49
Order of driving effcts	(11)	(1)	(3)	(4)	(2)	(5)	(9)	(6)	(7)	(10)	(8)
Visible distance in cm.	—	62 ±2.0	58 ±3.5	52 ±3.5	67 ±4.7	65 ±2.5	57 ±1.5	61 ±3.6	62 ±2.5	47 ±1.0	55 ±3.5
Order of the above	—	(3)	(6)	(9)	(1)	(2)	(7)	(5)	(4)	(10)	(8)

に近く，駆集効果が少なかつたものとみられる。又，赤色の場合に較べて，青色では水中可視距離が大であるので，この点が駆集効果に影響を与えているのではないかと考えられる。黒色の場合は濃淡の度合が甚しいので，稀釈の程度を大きくしたのであるが，淡黒に相当させた真水の場合は他の2者に対して，1％で有意差がある。又，これらの駆集効果は水中可視距離との関係もよく一致している。なお，水中可視距離が濃黒より中黒の方が大になつているが，誤差の範囲でもあり，むしろ両者の濃淡の差が効果として影響が少ないことを裏付けていると考えられる。

色彩間の関係をみると濃赤は青色，黒色に対して，大体有意差がみられ，駆集効果の優位を示している。

赤色の稀釈したものでは他の色彩に対して，有意差を認め難いが，総括的にみれば，水中可視順位は青色より低いにもかかわらず，駆集効果が優れるので，赤色は効果的な色彩といえる。青色及び黒色では真水，或いは極く薄い色の場合に対して，有意差が認められるが，その他に対しては殆んど相違がみられず，色彩効果は少ないようである。ガラス管が中空の場合は真水或いは極く薄い色の場合よりも駆集効果は上位であるとみられる。

要　　約

魚群に対する駆集効果は色彩によつて相違があるが，又，その色彩の濃淡に従つて効果が変つてくる。水中可視距離の順位は色彩の濃淡とはよく一致するが，可視距離の大なる色彩がかならずしも駆集効果がよいものではない。ここでは濃赤色のものが最も駆集効果に優れているが，これは前報の結果と一致している。概括的にみれば色彩と濃淡をあわせて，より鮮明なものが，刺戟的で，これに対する反応効果が大になるものであると考えざるをえない。

文　　献

1) 草下孝也：中央駆集法及び一端駆集法による漁網の色彩の効果，本誌，Vol. 22, No. 11 (1957)

2) 宮本秀明：桝網にはいる魚は嚢の位置，網の種類をどの様に選択するか――Ⅰ，Ⅱ＆Ⅲ，本誌，Vol. 19, No. 4, 10, 11 (1953)

3) 大倉，菊地，野村，三次，神田，小池：漁網の明暗及び色彩が漁獲に及ぼす影響に関する研究，水産研究会研資，No. 101 (1955)

4) 野村，三次，吉牟田，中野：イワシ刺網の長さの方向における罹網分布に及ぼす縫目の影響，本誌，Vol. 23, No. 5 (1957)

5) 神田献二，小池篤，小倉通男：漁網の色に関する研究，Ⅰ～Ⅱ，本誌，Vol. 23, No, 10.

Glycylglycine Dipeptidase に対する金属イオンの影響—VIII.*

幽門垂並びにそのグリセリン抽出液中の無機成分について

斗ケ沢 宣久
(岩手大学農学部)

Effects of Metal Ions on the Glycylglycine Dipeptidase—VIII. Inorganic Component of Pyloric Caeca and their Glycerine Extracts

Yoshihisa TOGASAWA

In the present investigation the author made an attempt to make clear the presence of GG-dipeptidase activating inorganic ions such as Co^{++}, Mn^{++} and Mg^{++} in the pyloric caeca of several fishes, tunny, bonito, and yellow-tail as well as in their glycerine extractives.

As shown in Tables 2, 3 and 4, whereas Co^{++} and Mn^{++} were not detected, the presence of Mg^{++} was verified, its amount being calculated as 30-50 mg % for fresh pyloric caeca. It seems that about 70 % of the Mg^{++} is transferred to the glycerine extractives.

従来魚類幽門垂の酵素化学的研究は多数報告されているに拘らず無機成分に就いての研究は極めて少ない[1)]。

著者は既報の如く魚類（マグロ，カツオ，ブリ）幽門垂 glycylglycine (GG) dipeptidase が Co^{++}, Mn^{++} により賦活される以外に特異的に Mg^{++} によつても賦活される事実を発見した[2,3)]。Co^{++} による賦活機構に関しては SMITH[4,5)] と同様 enzyme−Co^{++}−substrate 配位化合物の形成によるものと推定し，又 Mn^{++} による場合も恐らく同一機構によるものと推定した[6)]。然し此の酵素試料は結晶として分離されたものではなく，組織のグリセリン抽出液であるから酵素と共にグリセリン液中に移行してくる金属イオンの影響も考慮する必要がある。従つて著者は幽門垂 GG-dipeptidase に対し賦活的に作用する Co^{++}, Mn^{++}, Mg^{++} が幽門垂中に含有されているか否かを知る目的でマグロ，カツオ，ブリ幽門垂中の灰分について定性並びに定量分析を行い，之等が酵素液調製間に同液中に移行する際の量的変化を追求した。

実験の部

1. 試料

マグロ *Thunnus orientalis* TEMMINCK et SCHLEGEL
カツオ *Katsuwonus pelamis* LINNÉ
ブリ *Seriola quinqueradiata* TEMMINCK et SCHLEGEL

2. 試料の調製

1) 幽門垂の分析試料

定性分析試料としては幽門垂の外皮膜を除去後，ホモゲナイザーで磨砕均一化し，其の一定量をとり初め 100°C の乾燥器で乾燥後少量の濃硝酸を滴下しゆるやかに加熱，約 500～600°C で灰化する。之を 0.3 N HCl に溶解したものを用いた。

又定量用としては上記磨砕幽門垂の一定量を夫々の項に記した方法により調製した。

1957 年 8 月 28 日受理

* 昭和 30 年 4 月本報の一部を日本水産学会で講演

2) グリセリン抽出酵素液の分析試料

定性用として上記磨砕幽門垂の一定量に5倍量のグリセリン（グリセリン 1：蒸溜水 1）を加えて良く攪拌，一昼夜放置後ガーゼと脱脂綿で濾過，此の粗グリセリン抽出酵素液を2分し其の1部はそのまま，他の1部は硅藻土の薄膜を作つた濾紙で濾過して得た酵素液を始め夫々砂皿上で蒸発乾固し，後序々に加熱炭化せしめ少量の濃硝酸を滴下，約 500〜600°C で灰化する。之を 0.3 N HCl に溶解したものを用いた。

又定量用としてはグリセリン抽出液の硅藻土濾液の一定量をとり夫々の項に記した方法により調製し定量を行つた。

3. 幽門垂並びに其のグリセリン抽出酵素液中の灰分含量

マグロ，カツオ，ブリの幽門垂をホモゲナイザーで磨砕均一化し，其の一定量をとり水分並びに灰分を測定，別に一定量の磨砕幽門垂から上記方法により調製した酵素液を灰化し夫々幽門垂から酵素液中に移行する灰分量の測定を行つた。

Table 1. Ash concentration in pyloric caeca and in their glycerine extract.

	Percentage of fresh matter				Ratio		
	Moisture	Ash in pyloric caeca	Ash in enzyme solution A	Ash in enzyme solution B	pyloric caeca	A	B
Tunny	78.15	1.35	1.21	0.84	100	89.62	62.22
Bonito	75.48	1.52	1.29	1.14	100	84.86	75.00
Yellow-tail	78.64	1.10	1.08	0.75	100	98.18	68.18

A……Glycerine extract of pyloric caeca.
B……Celite filtrate of A.

結果は Table 1 の如くで幽門垂新鮮物中の灰分含量はマグロ 1.35％，カツオ 1.52％，ブリ 1.10％で，乾物に換算して 5〜6 ％前後であり，之から調製した粗グリセリン抽出酵素液は尚乳濁状態を呈し，数日間放置するも沈降清澄液とならず，遠心分離による分離も不可能で尚相当の組織を混入しており此の酵素液に移行する灰分量は 80〜90％ 前後でブリの場合は 98.18％ も移行する。

又此の粗グリセリン抽出液を硅藻土の薄膜を作つた濾紙で濾過して得た酵素液は酸素力に変化なく而も蛋白態窒素がマグロの場合約 1/2.6 に減少した透明な液体で[7]，一般に此の調整法による酵素液に移行する灰分は組織中の 60〜75％ に相当する。

従つて酵素液調製に当り大部分の幽門垂中の灰分が酵素液中に移行するものと見做し得る為，酵素液から更に酵素反応系に及ぼす無機質の影響は充分考慮されねばならない問題である。

4. 幽門垂並びに其のグリセリン抽出液灰分中の無機成分

上の実験から特異的な金属イオンにより影響される peptidase の研究を行う場合組織から酵素液中に移行する金属イオンの種類並びに量的関係を考慮せねばならなく，幽門垂から得られた上記試料を常法により5族まで定性分析を行つた。結果は Table 2 の如くである。

即ち陽イオンとしてマグロ，カツオ，ブリ幽門垂中に検出された元素は Al，Zn，Fe，Ca，Mg，Na，K の7元素で，何れも酵素液中への移行が認められた。従つて GG-dipeptidase の賦活に関与する Co^{++}，Mn^{++}，Mg^{++} の中 Co^{++}，Mn^{++} は検出されず，Mg^{++} のみが検出されたが，カツオ幽門垂中に Co^{++} の痕跡を認めている研究者[1] もあり，更に精密を期し幽門垂並びに硅藻土濾過酵素液の灰分を発光スペクトルによる元素組成の検索に供した。此の際の発光条件は断続弧光法で，日本電興株式会社製カーボンを使用し，電極間隔 3 mm，スリツトの開き 0.005 mm で島津 QF—60 型石英分光分析器を使用した。結果次の如きスペクトル写真を示した。

即ち検出された金属元素は Cu，Al，Zn，Fe，Ca，Mg，Na，K で，Si，P 等の非金属元素も検出され化学分析の結果と同様 Co，Mn は検出し得なかつた。

5. 無機成分の定量分析

定性分析により検出された各元素の定量分析を行い幽門垂から酵素液（粗グリセリン抽出液の硅藻土濾液）

Table 2. Metallic ion found in pyloric caeca and in their glycerine extract.

Group no.	Cation	Tunny pyloric caeca	Tunny A	Tunny B	Bonito pyloric caeca	Bonito A	Bonito B	Yellow-tail pyloric caeca	Yellow-tail A	Yellow-tail B
1	Ag^{+}, Hg_2^{++}, Pb^{++}	−	−	−	−	−	−	−	−	−
2	Pb^{++}, Bi^{+++}, Cu^{++}, Cd^{++}, Hg^{++}	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	As^{+++} (As^{+++++}), Sb^{+++} (Sb^{+++++}), Sn^{++} (Sn^{++++})	−	−	−	−	−	−	−	−	−
3	Al^{+++}, Zn^{++}, Fe^{++}	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Cr^{+++}, Mn^{++}	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Ni^{+}, Co^{++}	−	−	−	−	−	−	−	−	−
4	Ca^{++}, Mg^{++}	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Ba^{++}, Sr^{++}	−	−	−	−	−	−	−	−	−
5	Na^{+}, K^{+}	+	+	+	+	+	+	+	+	+

A……Glycerine extract of pyloric caeca.
B……Celite filtrate of A.

中に移行する元素の割合を算出した。尚分析法は次の如く行つた。

1) Al, Fe, Zn の定量：磨砕幽門垂の一定量をケルダールフラスコにとり conc HNO_3 を滴下しながら液が透明になるまで加熱分解し，稀釈して実験に供した。

又酵素液は其の一定量を坩堝に入れ砂皿上で加熱しながら蒸発乾固せしめ，灰化後 dil HNO_3 に溶かし実験に供した。

先づ燐酸除去の目的で蒸発乾固し conc HNO_3 を加え数回蒸発乾固を繰り返し完全に硝酸塩に変え，之に conc.HNO_3 5 cc 加えて溶解せしめ 1 g の Sn を少量づつ加えながら加熱，不溶解性の燐酸錫 $(H_2SnO_3)m\cdot(P_2O_5)n$ の形で除去し過剰の Sn は H_2S を通じ SnS_2 として除去した。此の濾液は NH_4Cl の存在下に NH_4OH を加え水酸化物とし，更に H_2S を通じて硫化物として沈澱せしめ，沈澱は HCl に溶解し NH_4OH を加えて Fe と Al を水酸化物として再沈澱せしめ濾過した。濾液中の Zn は微酸性に於て H_2S を通じて硫化物として沈澱せしめた後 HNO_3 に溶解し灼熱して ZnO として秤量した。

又 Fe と Al の水酸化物は坩堝に移し灼熱して酸化物の合量として秤量後 conc HNO_3 に溶かし，一度蒸発乾固後 0.5 N HNO_3 に溶かして一定量とし，チオシヤン酸法により発色せしめ 480 mμ に於ける吸光度を Beckman spectrophotometer で測定，予め作製した検量線から Fe を定量した。尚 Al は Fe, Al の合量から Fe 量を差引き算出した。

2) Ca, Mg の定量：試料は定性分析の場合と同一要領で調製したものを用い，キレート滴定法により Ca, Mg を定量した。

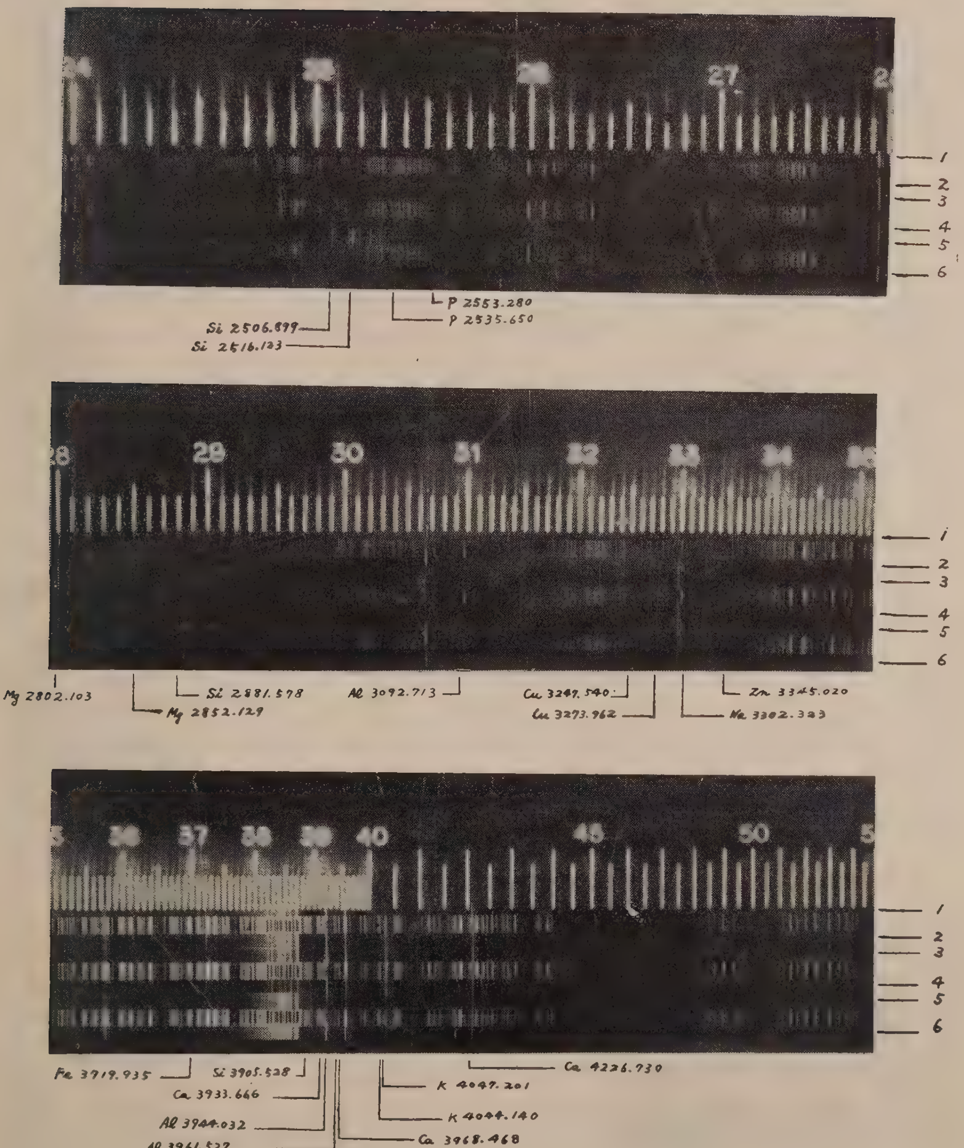
3) Na, K の定量：定性分析と同一要領で調製した試料を Lange の Flame photometer で測定し予め作製した検量線から Na, K の量を求めた。

各幽門垂並びにそれから調製した酵素液中の含有元素量は Table 3 に示す如くであり，其の各々の酵素液中への移行率を算出した結果は Table 4 の如くである。

結果幽門垂中には K, Na の含量多く新鮮物中 K は 250～320 mg%, Na 180～190 mg%, 次いで Ca 40～60 mg%, Mg 30～50 mg% で，Al は 20～30 mg%, Zn 並びに Fe は遙かに少ない。今之等各金属元素の同酵素液中へ移行する割合を見るにマグロ，カツオ，ブリ何れの場合も類似傾向を示し，Al が割合に多く 63～80% 以上も移行し，次いで Na, K 及び Fe 等で，Mg の移行率も多く其の約 60～70% 以上も移行するが Ca は少なく 40～45% 前後に過ぎず，Zn は 50～60% 程度である。

即ち幽門垂 GG-dipeptidase の賦活に関与する Co^{++}, Mn^{++}, Mg^{++} の中 Co^{++}, Mn^{++} は本酵素液中には全く含有されず，一方 Mg^{++} が幽門垂新鮮物中約 30～50 mg% も含有され而も酵素液調製に当り其の 60～70% も移行する事実から Mg^{++} による賦活機構は前報[6] の結果と合せ考慮し Co^{++}, Mn^{++} とは全く趣を異にした機構により賦活するものと考えられる。

Photographs of spectra



1. Pyloric caeca of tunny
2. Enzyme solution from the caeca of tunny.
3. Pyloric caeca of bonito.
4. Enzyme solution from the caeca of bonito.
5. Pyloric caeca of yellow-tail.
6. Enzyme solution from the caeca of yellow-tail.

Table 3. Metallic elements found in pyloric caeca and in their glycerine extract.

Element	Tunny		Bonito		Yellow-tail	
	mg % in fresh pyloric caeca	mg % in enzyme soln from 100g pyloric caeca	mg % in fresh pyloric caeca	mg % in enzyme soln from 100g pyloric caeca	mg % in fresh pyloric caeca	mg % in enzyme soln from 100g pyloric caeca
Al	21.8	18.2	27.4	22.1	29.6	18.8
Zn	7.5	4.0	9.5	5.8	12.9	7.0
Fe	3.6	2.7	4.5	3.2	3.5	2.6
Ca	42.9	16.8	63.8	25.4	41.8	18.6
Mg	32.6	23.2	47.9	33.7	34.7	21.7
Na	189.8	142.8	181.3	143.7	180.5	136.5
K	277.6	189.6	321.2	235.1	259.2	167.2

Table 4. Percentages of metallic elements removed from pyloric caeca into glycerine extract.

Element	Tunny	Bonito	Yellow-tail
Al	83.5	80.7	63.5
Zn	53.3	61.1	54.3
Fe	75.0	71.1	74.3
Ca	39.2	39.8	44.5
Mg	71.2	70.4	62.5
Na	75.2	79.3	75.6
K	68.3	73.2	64.5

要　約

マグロ，カツオ，ブリ幽門垂中に GG-dipeptidase 作用を賦活する Co^{++}，Mn^{++}，Mg^{++} が含有されているか否かを確認する目的で金属イオンの検索を行つた結果，Co^{++}，Mn^{++} は認められず，Mg^{++} の 30～50 mg %（新鮮物に対し）を検出し，而も酵素液調製に当り其の 60～70% が同液中に移行する事実を認めた。

終りに臨み発光分光分析の測定に関し援助を与えられた岩手県警察本部相馬亘信技師に厚く感謝の意を表する。

文　献

1) 堀口，柏田，柿本：本誌，**18**，279 (1953).
2) 斗ケ沢，勝又：岩手大農報告，**2**，66 (1954).
3) 斗ケ沢，勝又：本誌，**21**，1070 (1956).
4) E. L. Smith：*J. Biol. Chem.*，**173**，553，571 (1948).
5) E. L. Smith：*J. Biol. Chem.*，**176**，9，21 (1948).
6) 斗ケ沢，勝又：本誌，**23**，625 (1958)
7) 斗ケ沢，勝又：本誌，**23**，163 (1957).

On Purified M-Actomyosin of Squid Muscle

Juichiro J. MATSUMOTO
(*Tokai Regional Fisheries Research Laboratory*)

In the previous work[1], it was reported that response of streaming birefringence (SB) of M-actomyosin, an actomyosin-like protein of squid muscle, responds to the addition of adenosinetriphosphate (ATP) and that the adenosinetriphosphatase (ATPase) activity of M-actomyosin which functioned during the ATP-response appeared not to be inhibited by the presence of Mg ion. Though the effect of bivalent metallic ions such as Ca and Mg ions on ATPase activity is very complicated, a greater number of the investigators share an opinion that there are two kinds of muscle ATPase, a water-soluble, Mg-activated ATPase as well as another ATPase inherent to myosin, which is activated by Ca but inactivated by Mg[2][3][4][5]. Hence the ATPase activity of M-actomyosin seems distinct from that of myosin and actomyosin of rabbit regarding to the effect of Mg ion. However, as the preparation of M-actomyosin studied previously might have been contaminated with the former of these ATPases, further study is needed with a preparation freed from the water-soluble ATPase.

The present paper includes the responses of SB and viscosity to the addition of ATP as well as the phenomenon of superprecipitation with special interest to the effect of Mg ion, using a preparation presumably freed from the water-soluble ATPase by repeated precipitations.

Experimental

METHODS

Unless otherwise stated, methods employed were the same as the previous paper[1].

Preparation : In the previous work, M-actomyosin was precipitated from the aqueous extracts obtained by a number of repeated extraction. It was found later that use of a larger amount of water, 20~30 times the weight of muscle (v./w.), in the third extraction was more convenient, allowing the extraction of a good amount of the streaming birefringent proteins so that further repetition of extraction was dispensable. Moreover, while in the previous paper, by analogy of the salting-in range of rabbit actomyosin, M-actomyosin precipitate was collected by dialysing overnight the aqueous extract against 0.3 M KCl, it was also found later that this protein precipitated only by addition of KCl to 0.05~0.1 M. So in this time the precipitate was collected first at 0.05 M KCl and reprecipitated at 0.3 M KCl at which the dialysis in the previous work was done. The whole course of

Recevied Oct. 5, 1957.
Contribution B No 275, from the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo.

the preparation was as follows :

A very fresh squid, *Ommastrephes sloani pacificus* STEENSTRUP, purchased in whole sale market was skinned and its mantle muscle was minced. To 40 g. of the mince, 280 m*l*. of redistilled water was added, extracted for 10 min. by aid of a glass-stirrer, and centrifuged. The residue was reextracted with 240 m*l*. of water and further with 800 m*l*. as before. From the second and the third extracts which were both streaming birefringent, the latter, showing a very intense SB, was taken and recrystallized KCl added was so that a concentration of 0.05 M. was attained. The mixture which was taken 1 hour after adding KCl was centrifuged for 30 min. at 4,000 r.p.m. (1,500~2,800 *g*). The sediment was dissolved into 0.6 M KCl solution, precipitated twice by diluting it to 0.3 M KCl, and the protein was made up to a solution at 0.5 M or 0.6 M KCl (pH 6.4~6.6), insoluble matter being removed by centrifugation after a night cold storage. The sample thus prepared was viscous and highly opalescent, showing an intense SB. Protein concentration was 2.1 ~2.6 mg./m*l*. and yield, 1.6~2.3 % of total muscle proteins.

Streaming birefringence (SB) : The apparatus shown by OKADA and TADA[6] was used. In a series of repeating twofold dilutions of the sample solution with 0.6 M KCl, the lowest protein concentration for showing + pattern of SB was determined and response to added ATP was studied using the protein solution of this concentration. To 10 m*l*. of the protein solution, 0.2 m*l*. of 0.25 M $MgCl_2$ or water, and 1 m*l*. of 0.020 M ATP were added and SB was pursued.

The final concentration of Mg ion in the above mixtures and also the final concentrations of Mg and Ca ions in the mixtures for the viscosity experiment, were adjusted to 0.001 M, where the Mg ion is said to show an inhibitory effect while the Ca ion an activating one to the ATPase of myosin and actomyosin of rabbit in the presence of 0.5~0.6 M KCl.[2)3)7)]

Viscosity : Two OSTWALD viscometers (capillary diameter, 0.7 mm.; capillary length, 93 mm. and 95 mm.; volume of the bulb, 1.92 cc. and 2.06 cc.; time of outflow for 0.5 M KCl at 25°C., 12.0 sec. and 13.7 sec.) were used. To 5 m*l*. of the protein solution, 0.1 m*l*. of water, 0.02 M $MgCl_2$ or 0.02 M $CaCl_2$ were added, and then after the viscometer was placed in a thermostat at 25°C. for 5~10 min., 0.5 m*l*. of 0.028 M ATP solution was added and the change of viscosity was examined.

Superprecipitation : One volume of the protein solution in 0.5 M KCl, was diluted with 3 volumes of water and 1 volume of veronal acetate buffer (I=0.1, pH 6.3), and the protein was brought to a suspended state in a medium of 0.12 ionic strength. To 1 m*l*. of this suspension 0.02 m*l*. of water, M/20 $MgCl_2$, or M/20 $CaCl_2$, and 0.1 m*l*. of 0.028 M ATP solution were added and the change that followed was examined.

ATP sample : ATP-Na_4 of zellstofffabrik was dissolved and used immediately. The purity estimated from Δ7P was 80 %.

RESULTS

(*A*) ***Response of SB to ATP*** (Fig. 1)

The solution of M-actomyosin itself showed SB at the concentration used in the ex-

periment. If ATP was added to the solution at room temperature, SB disappeared instantly, restored (recovered) to an extent within 5 min., and SB as intense as that before adding ATP was observed 7 min. after the addition of ATP (Curve B). This consequence was almost the same as that of the previous study. When $MgCl_2$ was added, there was found a delay in the restoration of SB, and as late as 20 min. after adding ATP, SB was judged as + pattern, whereas this + pattern was rather inferior in intensity to the + pattern observed before the addition of ATP. SB, however, could not be observed when it was examined 50 min. after the addition of ATP (Curve C).

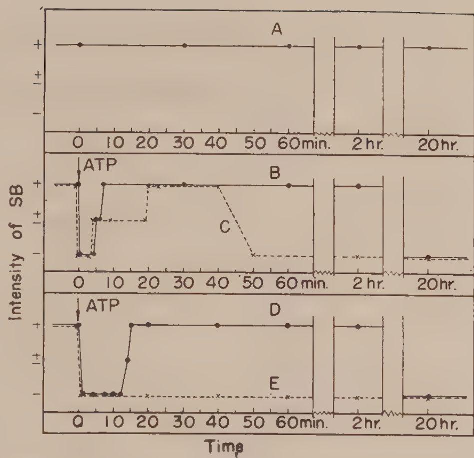


Fig. 1. Changes of SB of purified M-actomyosin in 0.6 M KCl upon addition of ATP.

	A	B	C	D	E
Protein concn, mg./m*l*.	1.2	1.2	1.2	1.2	1.2
ATP ($\times 10^{-3}$ M)	—	1.8	1.8	1.8	1.8
$MgCl_2$ ($\times 10^{-3}$M)	—	—	1	—	1
pH	6.4	6.4	6.4	6.5	6.5
Temperature, °C.	17	17	17	~0	~0

In another experiment, wherein the sample solution was kept in contact with ice and occasionally taken out for examination of SB, it took about 15 min. before SB restored (Curve D). In the presence of Mg ion and at a low temperature as well the once-disappeared SB was never found again, even over the following 2 hours (Curve E). When examined after a night, all samples ever subjected to ATP addition showed no SB (Curves B~E), while SB was invariably found in the sample that was never added with ATP (Curve A).

These results suggest that the sample studied here also undergoes the dissociation as shown in Equation (1) which was referred to in the previous paper.

$$\text{actomyosin} \xrightarrow{+\text{ATP}} \text{actin} + \text{myosin} \qquad (1)$$

In addition, the present data might suggest that the ATPase activity of M-actomyosin is depressed at low temperature and also in the presence of Mg ion, and thus the recombination of M-actomyosin as a result of enzymatic decomposition of ATP is inhibited by the same factors. The amount of the ATP added here was 150 g. mole per 10^5 g. protein.

(*B*) ***Response of viscosity to ATP*** (Fig. 2)

To trace the dissociation of actomyosin with ATP, the response of viscosity had been used more often by investigators, because the latter method is more suited to deal with the data quantitatively. So, in order to confirm the result of SB-response, the response of the protein viscosity to the ATP in 0.5 M KCl* alone, as well as in the presence of $MgCl_2$ or $CaCl_2$ were examined using another lot of preparation.

* In the experiment on SB-response above, KCl concentration was 0.6 M with the intention of checking up the previous work. In the experiment on viscosity, however, the salt concentration was reduced to 0.5 M because it was suggested by later observations that M-actomyosin is rather stable at lower ionic strengths.

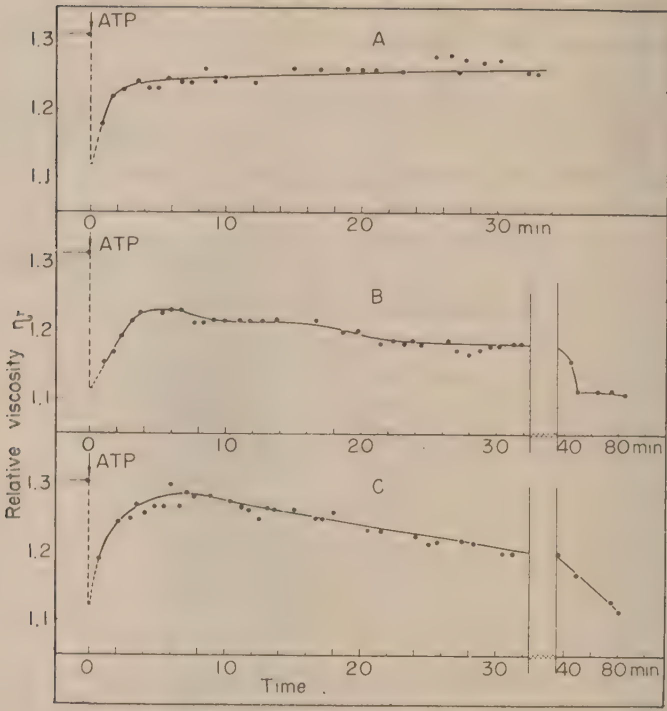


Fig. 2. Changes of viscosity of purified M-actomyosin in 0.5 M KCl upon addition of ATP.

	A	B	C
Protein concn. mg./ml.	2.0	2.0	2.0
ATP ($\times 10^{-3}$ M)	2.5	2.5	2.5
$MgCl_2$ ($\times 10^{-3}$ M)	—	1	—
$CaCl_2$ ($\times 10^{-3}$ M)	—	—	1
pH	6.5	6.4	6.3

The amount of ATP added here was 125 g. mole per 10^5 g. protein.

The results of Fig.2 suggest that the preparation of M-actomyosin studied here responds to ATP according to Equation (1), and then changes to reverse direction of Equation (1), as a result of decomposition of ATP. In these cases, not only the viscosity fall on addition of ATP was so quick, but the recovery of the viscosity was so rapid, that it was difficult to trace the initial change with the present viscometer. For these initial stages of the curves, extrapolation was made as shown by dotted lines along these curves. The values for relative viscosity at difinite points on the curves are shown in Table 1.

In Curve A of Fig. 2 where neither Mg ion nor Ca ion was present, the quickly restoring viscosity approached to its maximum value within 2 min. after adding ATP, and kept up a slow but steady increase until 30 min. after, when the observation was stopped. In the presence of Mg ion, next to a less quick increase within 5 min., the viscosity tended again to decrease (Curve B). The maximum value (η_1) which was attained by the recovery was by far lower compared with the initial viscosity (η). Also in the presence of Ca ion (Curve C), the restoration of the earlier stages was very quick and the

Table 1. Changes in relative viscosity of purified M-actomyosin in 0.5 M KCl upon addition of ATP

(Calculated from Fig. 2)

	Sign of curve in Fig. 2	A	B	C	Note
	Protein concn. mg./m*l*. Added cation	2.0 None	2.0 Mg^{++} 1×10^{-3}M	2.0 Ca^{++} 1×10^{-3}M	
Relative viscosity	Before adding ATP, (η)	1.31	1.31	1.30	
	Immediately after adding ATP (η_{ATP})	1.11	1.11	1.12	Extrapolated value
	Maximal value after recovery (η_1)	1.26	1.23	1.29	A, after 25 min. B, after 5 min. C, after 5 min.
	On prolonged standing (η_2)	1.26	1.11	1.12	
	ATP-sensitivity, $\frac{ln\eta - ln\eta_{ATP}}{ln\eta_{ATP}}\times 100$	159	159	132	

maximum value of the viscosity (η_1) was close to that before adding ATP, but after 10 min., the once-restored viscosity resumed to fall, and reached a value which is close to that of the final stage of the case with Mg ion.

A control experiment where 1.0 m*l*. of water instead of ATP solution was added, to the protein solution showed only a slight drop of viscosity, confirming the effect of ATP in the above experiments.

As a measure of the effect of ATP on viscosity, "ATPsensitivity",

$$\frac{ln\eta - ln\eta_{ATP}}{ln\eta_{ATP}}\times 100$$

(η and η_{ATP}, relative viscosities before and after adding ATP)[8], is shown in Table 1. The ATP-sensitivity of M-actomyosin of squid under experimental condition was 132~159 %. These values are of a comparable order with these of actomyosins of rabbit (60~180 %)[8] and carp (116 %)[9].

(C) Superprecipitation

If ATP was added to the opalescent suspension of an M-actomyosin preparation at $I=0.12$, instantly the suspension became more transparent, and fine particulate aggregations were formed which deposited within 2 hours into a compact precipitate separating a clear mother liquid. Such a phenomenon was always found whether in the absence or presence of alkali earth metals. So it might be proved that this preparation shows a kind of superprecipitation. In these experiments the final concentrations of the components and other factors were as follows : Protein, 0.53 mg./m*l*. ; ATP, 1.8×10^{-3} M ; $MgCl_2$ and $CaCl_2$, 1×10^{-3} M ; *I*, 0.12 ; pH, 6.3~6.4 ; temperature, 17 °C. ; ATP/protein, 340 g. mole/10^5 g.

Discussion

The observed changes in SB and viscosity brought by added ATP stand in harmony with each other in supporting that dissociation of the protein molecule occurred like Equ-

ation (1), though it is obscure whether the said actin and myosin are strictly identical with actin and myosin of rabbit or carp.

The results obtained suggest that ATPase activity of M-actomyosin was prevented not only by the Mg ion of the studied concentration (1×10^{-3} M), but at low temperature. The effect of Ca ion appeared to be activating though the data obtained was not so precise.

There is another interesting point as regards the effect of Mg and Ca ions. Namely, if Mg or Ca ion was present, the once-restored SB and viscosity resumed to decrease. Also in the absence of Mg and Ca ions, if ATP was once added, the once-restored SB has disappeared a night after, while SB of the control sample to which ATP was not added was always detected even after a night standing. In other words, if M-actomyosin was brought to contact with ATP and a sort of dissociation was induced once, the protein has become less stable and might have been imposed with a tendency to reduce its asymmetry. Though the mechanism of these changes is obscure, the following appears to account in a general meaning for the consequences. If M-actomyosin is once brought into contact with ATP, and is once dissociated into its components, possibly into actin and myosin, the latters are less asymmetric in shape and more random in orientation than M-actomyosin. Thus, even when M-actomyosin might be formed again, it might not be able to restore fully the highly asymmetric and stable configuration as it was before. Besides these causes, some necessary factors for the stability of M-actomyosin might be lost in the recombination product.

In Table 1, values of η_2 of Curves B and C were close to those of η_{ATP}. This fact might suggest that there is some resemblance in molecular state of the protein between the stage where viscosity has fallen again and the stage immediately after the ATP addition. Thus, when viscosity has fallen again, M-actomyosin might also have dissociated into its components.

However, YOKOYAMA *et al.*[10] have reported a strange manner of viscosity change of myosin B fractions of scallop and other shellfishes, and YAGI *et al*[11]. has shown some confronting results with similar materials. At any rate, it could be suggested that, also in the case of squid muscle proteins, the mechanism of ATP-responses are by no means simple, as the cases with other mollusks' muscles.

Though data on the effect of Ca and Mg ions on ATPase of myosin and actomyosin of rabbit seem complicated, some investigators agree in that it is activated with 0.0001～0.01 M Ca ion and inhibited with 0.00001～0.01 M Mg ion, both at the higher ionic strengths (*e.g.* 0.5 M KCl)[2][3][7].

As seen from the present data, the ATPase of M-actomyosin of squid is also prevented by Mg ion ; so, the possibility that it might be activated by Mg ion has now been eliminated. Hence, the activation by Mg ion observed in the previous study might have possibly been due to a contamination with a kind of Mg-activated ATPase[3][4][5]. Further detailed study on ATPase activity will be treated in other report.

The ATPase activity of M-actomyosin has been found not to be of a new type as far as the effect of Mg ion is concerned, but the property that it is extracted easily with water from the muscle remains as a distinctive feature.

Summary

1) On M-actomyosin preparation of squid muscle purified by reprecipitations, its responses of streaming birefringence (SB) and of viscosity to adenosinetriphosphate (ATP) added were studied togather with superprecipitation.

2) The changes of SB stood in harmony with those of viscosity, suggesting that dissociation and recombination of M-actomyosin occurred successively when ATP was added. Superprecipitation was also confirmatively found with M-actomyosin.

3) In the process of ATP-responses of SB and viscosity, the adenosinetriphosphatase (ATPase) activity of M-actomyosin was found to be inhibited by Mg ion. It was shown that, as far as the effect of alkali earth metals on ATPase activity is concerned, M-actomyosin of squid is not distinct from actomyosin of rabbit and carp.

The author wishes to express his appreciation to Dr. M. MIGITA for his valuable advice, to Prof. S. MIZUSHIMA for his encouragement and to Miss. M. AKIBA for the technical assistance.

References

1) MATUMOTO, J. J. : *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **23**, 92～104 (1957).
2) ENGELHARDT, V. A. : "Advances in Enzymology", **6**, 147～91 (1947).
3) BAILEY, K. : "The Proteins", Vol. II, Part B,. 951～1055, (1954).
4) MOMMAERTS, W. F. H. M. : "Muscular Contraction" Interscience Publisher, New York (1950) 96.
5) KIELEY, W. W. and MEYERHOF, O. : *J. Biol. Chem.*, **176**, 591～601 (1948).
6) OKADA, M. and TADA, S. : *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **20**, 224～31 (1954).
7) WATANABE, S., TONOMURA, Y. and SHIOKAWA, H. : *J. Biochem.* (*Jap.*), **40**, 387～402 (1953)
8) WEBER, H. H. and PORTZEHL, H. : "Advances in Protein Chemistry", **7**, 211, 215, 236 (1952) : PORTZEHL, H., SCHRAMM, G. and WEBER, H. H. : *Z. Naturforsch.*, **5b**, 61～74 (1950).
9) HAMOIR, G. : "Contribution a l'étude des proteines musculaires de poissones", Imprimerie H. Vaillent Carmanne. S. A., Liege (1955) 93 : "Advances in Protein Chemistry", **10**, 258 (1955).
10) YOKOYAMA, M., TERAYAMA, Y. and NAGAI, T. : *Kagaku*, **22**, 473 (1952).
11) YAGI, K., SASAKI, A. and MATSUMIYA, H, : *J. Jap. Biochem. Soc.*, **26**, 630～3 (1954).

淡水魚類の血糖量について

福 田 博 業
(宮崎大学農学部水産化学教室)

On the Blood Suger of Fresh Water Fish.

Hironari FUKUDA

Amounts of blood suger contained in living fresh water fish and amphibia has been estimated. Blood suger of pond cultured fish or gentle stream fish are at a comparatively low concentration, ranging from 15 to 40 mg./dl., while that of the fish, living in the rushing stream, has high contents of blood suger, i. e., from 59 to 129 mg./dl. The highest value of blood suger content is found with "yamame" trout, *Oncorhynchus milktschitsch*, to be 129～131 mg./dl., while the lowest value of 19 mg./dl. in the normal state is assigned to "unagi", *Anguilla japonica*, and "namazu", *Parasilurus asotus*.

硬骨魚類の血糖量を測定した報告は少ない。最近斎藤[1]は数種の海産魚類について血糖量を測定し，魚種による血糖量の差は少くおよそ 60～80 mg/dl であつたと報告している。しかし血糖は動物のエネルギー代謝に関与する重要な成分であるから，動物の運動習性に関連して血糖量に差異のあることが予想される。

著者は主として淡水魚類の血糖量を測定し，魚種によつて明らかな差異のあることを認めたので報告する。

実　　験

1. 実験試料

淡水魚類 10 種，両棲類2種について血糖量を測定した。生理的条件により血糖量に差異を生ずることを考慮して，なるべく正常な生活状態にある個体から採血して測定に供し，止むを得ない場合に限り実験室まで活魚運搬してから採血し測定した。また生活状態による個体差を考慮してなるべく多数の個体から得た血糖量を魚種別に平均して表わした。また水槽中に飼育して摂餌不良の状態にあつたものには一般に血糖量を低下する傾向が認められたので，なるべく野性状態にあるものを釣または網により採捕し即座に採血し測定した。

2. 測定方法

採血には注射器を用いて心蔵から直接に採血するか，小形魚では尾柄部を切断し流出する血液を採取した。採血した血液から血球計数用の小ピペットを用いて，精確に 0.1 ml をとり血糖量を測定した

血糖の測定は HAGENDORN-JENSEN 法[2]により，ミクロビューレットを用いて 0.005 N $Na_2S_2O_3$ で滴定し，血液 100 ml 中に含まれるブドー糖量 mg として表した。

実験結果と考察

各魚種ならびに両棲類2種について測定した血糖量を Table 1 に示す。なお表中の測定値は正常な状態にある個体の血糖量の平均値を示すものと考えてよい。

淡水魚類の中でも運動性の強い渓流性の淡水魚と，比較的に運動性の弱い静水性の淡水魚との間には明らかな血糖量の差異が認められる。すなわち，静水性淡水魚（例 コイ，フナ，ドジョウ，ナマズ等）では 15～40 mg/dl，その大部分のものは平均値 26～32 mg/dl 位の間にあつて，止水状態で養つたフナの如きは

1957 年 11 月 8 日受理

Table 1. Blood-sugar content of aquatic animals., 10 species of fresh water fish and 2 species of amphibia.

	Animals		Indivi-	Body weight	Blood-Suger (mg/dl)		Season	Remark
	Japanese name	Species name	duals	(g)	Range	Average		
Rushing stream fish	Yamame	*Oncorhynchus milktschitsch*	3	71～83	127～131	129.0	Sept.	torrent
	Nijimasu	*Salmo irideus*	2	225～250	72～74	73.0	〃	〃
	〃	〃	3	22～59	56～63	59.0	〃	〃
	Aburahaya	*Moroco steindachineri*	3	22～27	65～67	66.0	〃	〃
	Ugui	*Leuciscus hakonensis*	2	75～83	56～63	59.5	〃	〃
Gentle stream fish	Koi	*Cyprinus carpio*	5	300～400	31～43	36.0	Sept. ～Dec.	pond
	〃	〃	4	250～300	29～34	31.5	〃	〃
	Funa	*Carassius auratus*	1	75	32	32.0	Dec.	〃
	〃	〃	7	20～40	22～27	26.0	July～Dec.	〃
	Unagi	*Anguilla japonica*	9	40～60	27～39	32.7	June～Dec.	river
	〃	〃	6	20～40	19～36	26.1	〃	〃
	Dojo	*Misgurnus anguillicaudatus*	9		24～29	26.0	June～Sept.	〃
	Namazu	*Parasilurus asotus*	4	50～150	19～38	27.0	July～Dec.	〃
	Funa	*Carassius auratus*	6	29～85	14～20	17.6	Nov.	aquarium
Amphibia	Tonosama-gaeru	*Rana nigromaculata*	5	45～60	34～45	37.6	June	wild
	〃	〃	4	25～45	17～25	21.2	〃	〃
	〃	〃	4	53～75	22～31	25.5	Nov.	〃
	Ushi-gaeru	*Rana catesbiana*	6	55～75	20～35	27.0	July～Oct.	〃

14〜20 mg/dl の低い血糖量を示した。これに対して溪流に住む淡水魚（例 ヤマベ，ニジマス，アブラハヤ等）の血糖量は 56 mg/dl 以上の値を示し，平均値において 50〜129 mg/dl の高い値を示した。特に急流を好んで住み運動の敏活なヤマベの例では 127〜131 mg/dl のごとき非常に高い血糖量を示した。

以上の事実は明らかに魚類の血糖量がその魚種の運動習性あるいは個体の生活環境と密接な関係のあることを示すものであると考える。これは生体内における糖代謝の機作から考えて，むしろ当然の事実を示した結果であろう。更に一歩を進めて同一魚体における肝臓グリコーゲン量と血糖量との関係を測れば一層この間の事情を明らかにし得るものと考えたが，野外測定の都合上これを行い得なかつたので以上の事実を報告するにとどめる。

なお表中に数例を示したが，個体の大小によつて血糖量に差が認められ，体重の大きいものの方が血糖量が大であつた。

要　　約

1. 淡水性魚類 10 種，両棲類 2 種について血糖量を測定した。その結果，運動敏活な溪流性魚類と運動緩漫な静水性魚類との間に明らかな血糖量の差異のあることを認めた。

2. 運動緩漫な静水性淡水魚では大部分の魚種が，15〜40 mg/dl（平均値 26〜32 mg/dl）の比較的低い血糖量を示した。

3. これに対して運動敏活な溪流性淡水魚では 56 mg/dl 以上，魚種別の平均値で 59〜129 mg/dl の高い血糖量を示した。特に高いヤマベの例では 127〜131 mg/dl を示し血糖量が魚の運動習性と関係あるらしいことを示した。

4. 魚体の大きいものの方が血糖量が多い傾向があつた。

終りに実験上の便宜を与えられた宮崎県淡水漁業指導所日高武達所長に謝意を表し，実験に協力された山上脩司君に感謝する。

文　　献

1) 斎藤　要：本誌，**20**，196 (1954).

2) 江上不二夫，他："標準生化学実験"，(1953).

ニジマス発生中の一般成分の変化

須山三千三・荻野珍吉
(東京水産大学)

Changes in Chemical Compositions during Development of Rainbow Trout Eggs

Michizo SUYAMA and Chinkichi OGINO

Trend of pH value, changes in the amounts of water, total nitrogen, non-protein nitrogen, ether-extractives, crude ash, crude lipides, lipide-phosphorus and-nitrogen in developing rainbow trout eggs were measured, the results being shown in Table 1. The eggs, when transferred from ovarian fluid to water, absorbed abundant water, but decreased in weight on hatching, and then increased gradually after hatching as shown in Fig. 1.

In order that the bearing of these individual components on the egg development may be estimated as justly as possible, they are finally represented in gram per 100 grams of unfertilized eggs (Table 2). The results obtained are summarized as follows:

1) The amount of water of the unfertilized eggs increased by 17.5 g. due to the water uptake following the fertilization. On hatching, the water and solid matter decreased by about 4.4 g. and 7.8 g., respectively, owing to the detachment of egg capsule. The sac fry when a substantial amount of the yolk had been disappeared, retained the water about two times that of initial eggs.

2) Total nitrogen, ether extractives, and lipides were reduced by half during the course of development, but the non-protein nitrogen increased up to a value about five times as much as that of unfertilized eggs.

3) Ash content increased gradually.

4) On the whole, these increases or decreases became conspicuous with the start of the hatching. The consumption of total nitrogen, ether extractives, and lipides are thought to serve as the energy supply for the motion of embryo.

動物の卵は受精並びに孵化と言う生活史上大きな変化を営むが，この変化は生化学的に極めて興味深い問題を包含している。鶏卵，両棲類卵及びウニ卵については研究例が最も多く，NEEDHAM[1,2]，BRACHET[3] によつてこれら業績を集めた綜述が発表されている。然し魚卵については HAYES[4]，HOLLETT[5] がサケ科の卵の発生について，PHILLIPS 等[6] がブラウンマスについて，山本[7] がワカサギについて夫々研究しており，その他にも二三の報告が見られるが，鶏卵に比較して試料が得難く，且つ実験室内で発生を進行せしめることが困難である等の不便がわざわいしてか，研究もあまり進展していない現状である。

著者等は水産動物の発生に関する生化学的諸問題のうち窒素化合物の変化について研究することを意図した。けだしこの分野も又不明の点が多く残されているが故である。そこで先づ研究材料の比較的得易いニジマスを試料とし，この未受精卵並びに各種発生段階にある一連の胚胎試料について全窒素，エキス窒素その他一般成分を分析して，発生中のこれら成分の変化を追求した。その結果，これらはいづれも受精並びに孵化を境界として大きな変化を示すものであることを知つた。以下にその概略を記す。

実　験

試料　本研究に用いた試料はいづれも長野県明科にある県水産指導所に於て飼育したニジマス (*Salmo irideus* GIBBONS) の親魚より採つた成熟した未受精卵並びに発眼卵，孵化直前卵，孵化直後胚，浮上魚等

1957 年 11 月 13 日受理

の各種の発生過程にある 11 試料である。卵径は親魚の大きさ等により多少の差はあるが，吸水時 5.6 ± 0.2 mm で，受精後正常な発生を示しているもののみを試料とした。又個体差を除く目的で，未受精卵は 10 尾の親魚より集めこれを混合して濾紙で体腔液を除き去つたもの，受精卵以向の試料は数十尾の親魚より得たものの混合物で，周辺に附着した水を同じく濾紙で十分に拭い去つたものである。これらは採集後ポリエチレン袋に入れドライアイスで凍結して実験室に持ち帰り直ちに分析に供した。

分析 pH はベックマン pH メーター（G 型）により，水分は加熱乾燥法により，全窒素はキエルダール法により，又エキス窒素は 80% アセトンによつて繰返し抽出して得た抽出液から塩化カドミウムによつてリピドを除去したものの窒素をキエルダール法によつて測定した。他方，エーテル抽出物，灰分は常法によつて測定を行い，リピドはエタノール・クロロホルム混合液（1：1）を用いて抽出し[8]，リピド燐酸はリピドを苛性ソーダで鹼化した後 500°C. に加熱して分解し，硝酸で溶出してから比色法によつて測定した[8]。

結果及び考察

上記の分析方法によつて，ニジマス未受精卵並びに各種発生過程にある胚胎の一般成分を分析した結果は第 1 表の通りである。

Table 1. Chemical analysis of the rainbow trout eggs during development.

	Developmental stage	Time after fertilization	pH	Moisture %	Dry matter %	Total nitrogen mg %	Non-protein nitrogen mg %
8	Unfertilized egg	—	6.60	59.04	40.96	5141	54.6
9	Fertilized egg	9 hrs.	6.59	65.02	34.98	4114	46.5
11		4 days	6.60	64.82	35.18	4075	46.5
12	Embryo developed slightly	11	6.61	64.56	35.44	4051	48.9
13	Eyed egg, blood-vessel developed	19	6.67	64.57	35.43	4094	53.8
14	〃	27	6.73	65.04	34.96	4164	62.8
15	Just before hatching	30	6.75	65.35	34.65	4036	68.5
16	Sac fry, just after hatching	35	6.80	68.79	31.21	3580	94.5
17	Sac fry, ca. 1/3 yolk was absorbed	46	6.87	72.98	27.02	3075	149.2
18	Sac fry, ca. 2/3 yolk was absorbed	52	6.93	80.64	19.36	2339	181.8
19	Fry	55	6.96	84.23	15.77	1912	197.3

Table 1. Continued.

Sample No.	Ether extractives %	Crude ash %	Ash per dry matter %	Lipides %	Lipide-phosphorus mg %	Lipide-nitrogen mg %	Lipide-P per lipide mg %	Lipide-N per lipide mg %
8	7.94	1.61	3.93	12.01	157.2	101.3	1309	843
9	6.63	1.24	3.54	10.41	134.7	87.6	1294	841
11	6.68	1.27	3.61	10.29	129.8	86.1	1261	837
12	6.36	1.29	3.63	10.23	130.9	86.0	1280	840
13	6.46	1.36	3.83	9.98	128.6	90.2	1289	904
14	6.13	1.38	3.95	9.68	123.6	90.6	1277	936
15	6.23	1.34	3.86	9.80	124.2	92.0	1267	939
16	6.42	1.29	4.13	9.25	113.3	107.2	1225	1159
17	5.24	1.27	4.70	7.76	90.1	102.9	1161	1326
18	3.57	1.20	6.61	5.23	60.4	75.2	1155	1438
19	2.97	1.29	8.18	4.31	49.1	62.9	1140	1460

先づ pH 値については未受精卵では既に多数の親魚より得た個々の卵について報告したように 6.60 である[9]。この値は発生中漸次アルカリ側に移行し，浮上魚に於ては 6.96 と言う普通の魚肉に見られる値が示されている。

水分の変化は顕著で，未受精卵に於ては 59% であつたが受精後 9 時間の後には 65% に増加している。これはすでに青木[10]その他によつて研究されているように柔軟な卵膜が吸水して強靱な所謂“受精膜”を形成するためであり，この際，仮りに乾物量に変化が無かつたものとすれば約 17.1% の吸水が行はれたこと

となる。水分はその後殆んど変化しないが，孵化後は急速に増加し，浮上魚に於ては 84% 以上に達している。孵化後の試料についてこれを embryo と yolk とに分離して測定した別の研究[11]によれば，この水分の急増は水分含量の多い embryo の発達に由来するものであると思はれる。乾物量は全量より水分量を減じたもので，孵化後著しく減少している。

全窒素，エーテル抽出物，粗リピド等の量は受精卵では未受精卵よりも含量が少い。これは受精膜形成に際しての吸水に原因するものであろう。これらの値は孵化前までは徐々に減少するようであるが，大きな変化は見られない。然し孵化後は急速に減少している。

発生中殆んど変化が見られなかつたのは粗灰分量であるが，一方発生中著しい増加が認められたものはエキス窒素量である。即ちエキス窒素量は初め徐々に，孵化後著しく増加して浮上する際には初めの量の凡そ 3.5 倍に及んでいるが，全窒素の減少と対比するとき，卵蛋白質が筋肉蛋白質等に変化する過程に於てこれら非蛋白態窒素化合物が司る役割には極めて興味深いものがあることが推察される。粗リピド中の燐含有量の減少と窒素含有量の増加についてはいづれ詳細な試験を行いたいと考えるが，粗リピド中に含まれる中性脂肪量の変化の他にリピドの組成或いは構造の変化も各の一因をなしているように思われる。

第 1 表に示した以上の各成分量は夫々の試料 100 g についての分析値で表現してある。然しながら受精膜形成に伴う水の吸収或いは孵化時の卵膜の脱落の現象等から考えて見ても卵の重量は発生中にかなり増減することが判るから，単に成分量をパーセントで表示した第 1 表のみでは各成分の真の変動はわからない訳である。

今，発生中の卵及び胚の重量変化を測定してみたところ第 1 図に示すような結果が得られた。即ち卵径が 5.6〜5.7 mm (A) と 5.3 mm (B) の 2 群の卵について各発生段階毎に 100〜500 個（浮上魚の場合は 80 尾位）の試料をとつて重量を測定し，これより 1 個当りの平均重量を算出したものである。これによれば A, B 両群共浮上するまでは重量変化の曲線が殆んど平行している。そこで両群について未受精卵の重量に対する各発生段階の試料の重量増加率 (%) の平均値を求めたが，これを第 2 表の第 2 項に示した。即ち未受精卵を 100 g 採るとすれば受精後から浮上までの間に於て，各発生過程に於ては表の如き重量が見られる訳である。

この重量変化率を第 1 表の各分析値に乗ずれば未

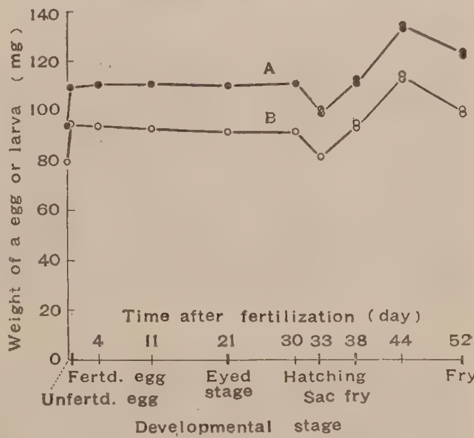


Fig. 1. Weight change of a rainbow trout egg during development.
A : egg diameter 5.6〜5.7 mm.
B : egg diameter 5.3 mm.

Table 2. Changes of the amount of chemical component (g.) equivalent to 100 g. of unfertilized eggs during development.

Sample No.	weight	Moisture	Dry matter	Total nitrogen	Non-protein nitrogen	Ether extractives	Ash	Lipides	Lipide-phosphorus	Lipide-nitrogen
8	100	59.04	40.96	5.141	0.055	7.94	1.61	12.01	0.157	0.101
9	117.7	76.53	41.17	4.842	0.055	7.80	1.46	12.05	0.159	0.103
11	117.7	76.29	41.41	4.796	0.055	7.86	1.49	12.11	0.153	0.101
12	116.9	75.47	41.43	4.736	0.057	7.43	1.51	11.95	0.153	0.101
13	116.1	74.97	41.13	4.753	0.068	7.50	1.58	11.59	0.149	0.105
14	116.3	75.64	40.66	4.843	0.073	7.13	1.60	11.26	0.144	0.105
15	116.6	76.20	40.40	4.706	0.080	7.26	1.56	11.43	0.145	0.107
16	104.4	71.82	32.58	3.738	0.100	6.70	1.35	9.66	0.118	0.112
17	118.4	86.41	31.99	3.641	0.177	6.20	1.50	9.19	0.107	0.122
18	142.5	114.9	27.59	3.333	0.259	5.09	1.71	7.45	0.086	0.107
19	127.8	107.6	20.15	2.444	0.251	3.80	1.65	5.51	0.063	0.080

受精卵 100 g が発生する場合の各段階に於ける成分の絶対量が算出される訳である。その結果を第2表に示した。

この表に示される数値は第1表の数値とは趣を異にしており，発生中の各成分の消耗や増加を直接示す点に於て第1表より都合が良いようである。例えば No. 18 の試料の水分について言えば，100 g の未受精卵は此の時期に 142.5 g となり，その中の水の量は 114.9 g を占め，未受精卵の水分量の丁度2倍になつていることが明らかである。又 No. 15 及び 16 について言えば，孵化に際して 12.2 g 減量するが，この減量の中水は 4.4 g であつて，残りの 7.8 g は流失する卵膜の重量（乾物）であることを示している。全窒素，エーテル抽出物，リピド等は浮上までに半減すること，エキス窒素は約5倍に増加すること等も明らかであり，第1表に於て変動がはつきりしなかつた灰分も，本表では僅かづゝ増加することが示されている。

No. 8 と No. 9 の両試料については単に水分量の激しい変化のみではなく，全窒素，灰分量等に多少の差が見られる。然し両試料の時間差は僅かに9時間であつて，この間に大きな生化学的変化があつたとは考えられない。おそらくこれは未受精卵の周辺に濾紙で拭い切れずに附着していたやゝ粘稠な体腔液が水中で洗い流されたために生じたことであろう。

概して発生中の一般成分の大きな変化は孵化以降に見られるようである。然してこの時期に於ける全窒素，脂質等の減少は HAYES[4] の言う如く embryo の運動に伴う消耗と考えて良いであろう。

摘　　要

ニジマスの未受精卵及び受精後発生を続けて浮上するまでの各試料について一般成分を分析した。特に発生中の重量変化を求め，これを分析値に加味して 100 g の未受精卵が発生，孵化する際の各成分量の変化を算出し，ニジマス発生中の一般成分の変動を明らかにした。

本研究を行うに当り終始御懇篤なる御指導を賜わつた東京大学教授森高次郎先生，並びに試料採集に際して多大の御便宜を与えられた本学教授稲葉伝三郎先生，長野県水産指導所長谷崎正生氏に感謝の意を表する。又本研究に要した費用の一部は昭和 31 年度文部省科学研究助成補助金によつて支辨されたことを附記して謝意を表する。

文　　献

1) J. NEEDHAM: Ann. Rev. Physiol., **17**, 37 (1955).
2) J. NEEDHAM: "Chemical Embryology", Cambridge, Univ. Press, 1931.
3) J. BRACHET: "Chemical Embryology", Intersci. Pub., 1950.
4) F. R. HAYES: Quart. Rev. Biology, **24**, 281 (1949).
5) A. HOLLET and F. R. HAYES: Can. J. Res., D. **24**, 39 (1946).
6) A. M. PHILLIPS, Jr., D. R. BROCKWAY and G. C. BALZER, Jr., : Prog. Fish-Cult., **18**, 104 (1956).
7) 山本喜一郎：動物彙，**28**，233 (1955).
8) A. O. A. C. pp. 277, 1950; A. L. WINTON and K. B. WINTON: "Analysis of Foods", pp. 843, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1947.
9) 稲葉伝三郎，野村　稔，須山三千三：本誌，**23**，762 (1958).
10) 青木　廉：鮭鱒彙報：第9年，33 号，1 (1937).
11) 須山三千三：未発表.

ニジマス発生中の蛋白構成アミノ酸の変化

須 山 三 千 三
(東京水産大学)

Changes in the Amino Acid Composition of Protein during the Development of Rainbow Trout Eggs

Michizo SUYAMA

The nitrogenous constituents of the fish eggs have been studied by many workers, but we know very little as yet as for the amino acid composition of egg-proteins and its changes during development. The total proteins of the unfertilized eggs and the larva at some developmental stages of rainbow trout, *Salmo irideus*, have been analyzed in respect of amino acid composition by the chromatografic technique of MOORE and STEIN[13] using a Dowex 50 column. In Fig. 1 is shown the elution curves obtained for the hydrolyzate aliquots of unfertilized eggs (No. 8) and the fry (No. 19) ; and in Table 1 is shown the results, the composition of amino acid.

1) The amino acid composition of total protein of unfertilized eggs bears some resemblance to that of vitellin[4] prepared from the yolk of chick-eggs except as to alanine and serine contents.

2) The unfertilized eggs show some changes in the amino acid composition of the protein during development ; the contents of arginine, aspartic acid, glutamic acid, glycine, hydroxyproline, lysine, methionine, and proline tended to increase, while the contents of alanine, isoleucine, leucine, phenylalanine, serine, threonine, valine, and amide-nitrogen tended to decrease.

From the rise and fall of glycine, glutamic acid, amide-nitrogen, etc., some discussion have been made regarding the consumption of total nitrogen and the formation of fish muscle protein during development.

卵は代表的な食品の一種で栄養学的研究が数多く行われている。殊に鶏卵については最も詳細に研究されており，その中蛋白構成アミノ酸については GRAU[1]，HESS 等[2]，CSONKA[3]，LEWIS 等[4] が夫々分析結果を報告している。一方魚卵ではサケ卵について ARRIZONI 等[5] 及び SEAGRAN 等[6,7] が，サケ及びニシン卵について DEAS 等[8] が必須アミノ酸又は数種アミノ酸の分布を研究しているに過ぎず，未だ明らかにされていない点も多いようである。

然し発生に伴う蛋白構成アミノ酸の変化に至つては鶏卵，魚卵共に詳細な研究例が殆んど無い。僅かにウニ (*Paracentrotus lividis*) の卵の発生に伴う変化について行われた GUSTAFSON 等[9] の研究がすぐれているのみである。著者はさきに共同研究者の荻野と共にニジマスの発生中及び稚魚の成育中に於ける蛋白構成アミノ酸の変化をペーパー・クロマトグラフィー及び二三の比色定量法で測定し，発生中蛋白のアミノ酸組成には大きな変化は認められないが，孵化直後の胚と摂餌後三日経過した稚魚との間には alanine の減少並びに glycine の増加が顕著であり，その他二三のアミノ酸は僅かな減少があることを報告した[10]。

然しながらこの実験に於ては発生段階を追う試料に乏しく，孵化直後の胚試料と摂餌三日の稚魚試料とを比較している点等，発生中の一連の変化を見るにはやや不足しているものがあると思われる。

著者は前報[11] に於てニジマス発生中の一般成分の変化を報告し，発生中全窒素，脂質等は漸次減少し，非蛋白態窒素，灰分等は増加すること，並びにこれら変化は孵化後に著明に進行すること等を明らかにした。そこで今回この分析に使用した試料と全く同一のものから蛋白試料を調製し，その分解液中のアミノ酸をイオン交換樹脂を用うるカラム・クロマトグラフィーによつて定量することを試みた。その結果発生中の蛋白の glycine 及び alanine について夫々増加及び減少が再確認され，同時に glutamic acid, methionine, pro-

1957 年 11 月 13 日受理

line 等数種のアミノ酸含量の変化に新しい知見を得ることが出来た。以下その概略を報告する。

実　　験

試料　本研究に用いた試料は長野県水産指導所に於て飼育したニジマス *Salmo irideus* GIBBONS の親魚より採つた成熟未受精卵並びに発生途次にある数種の胚で，前報[11]の一般分析を行つた試料と全く同一である。唯，発生中の全窒素及びエキス窒素の消長は孵化前に於ては極めて緩慢であるが，孵化後は比較的急激であると言う前報の結果を考慮してこの中より未受精卵（No. 8），発眼卵（No. 13），孵化直後の sac fry（No. 16），臍嚢内容物を約 1/3 吸収した sac fry（No. 17）及び浮上魚（No. 19）を選出し分析に供した。

アミノ酸定量用蛋白試料は，エキス窒素分析に用いた残渣を長時間沸騰アルコールで処理してリピドを出来るだけ分離し，次いでエーテルで処理して可溶性物質を浸出除去した後，硫酸デシケーター中で数日間乾燥して調製した。これを試験管にとり，20 倍量の 3 N HCl を加えて封管し，水蒸気圧 15 lbs. で 10 時間加水分解を行つた。又 tryptophan を定量するために 30 倍量の 4 N NaOH で同様に加水分解を行つたが，KUIKEN 等[12]に従い試料に対し予め 40% 量の cysteine-HCl を添加して加水分解中の酸化を防止した。加水分解量はカラム・クロマトグラフィーを実施する際の便宜並びに精度を考慮して 0.1 g 近辺をとり，分解液を一定容 25 cc. としてその 1 cc.（約 4 mg のアミノ酸に相当）をクロマトグラフィーにかけることとした。

定量法　MOORE 等[13]の報告に従い，イオン交換樹脂 Dowex 50-X8 を用いてアミノ酸の分離定量を行つた。但し，樹脂は 200～400 mesh のものと 400 mesh 以上のものを等量混合した場合に glycine 及び alanine と tyrosine 及び phenylalanine が夫々よく分離することを知つたのでこの混合物を使用した。フラクション・コレクターによつて分取したアミノ酸の発色並びに比色は YEMM 等[14]の方法に基づき著者等[15]の吟味を加えて行つた。

結果及び考察

未受精卵（No. 8）並びに浮上魚（No. 19）蛋白の加水分解液のアミノ酸流出曲線を第 1 図に示す。何れもベックマン分光々度計により proline 及び hydroxyproline は 440 mμ に於て，その他のアミノ酸は 570 mμ に於て吸光値を測定したものである。MOORE 等[13]の報告に比較して glutamic acid 及び proline の分離がやや悪く，その他のアミノ酸の分離状態は比較的良好であつた。tryptophan は第 1 図に記入しなかつたが 15 cm カラムの 50 cc. 附近にゆるやかな山をなして画かれる。

各試料についての最終結果を第 1 表に示す。これによれば第一にニジマス卵の蛋白質には代表的アミノ酸のすべてが含まれていることがわかる。LEWIS 等[4]の雞卵黄 vitellin のアミノ酸分析結果に比較的類似しているが，やや alanine が多く serine が少いようである。本邦に於てはニジマス卵は殆んどすべてが鱒の人工養殖を目的として採卵され食用に供せられることは少いが，アメリカ等では食料及び飼料（主に dog food）に向けられる量も多い。少くも蛋白構成アミノ酸の種類の上からは栄養上優れたものであると言えよう。

発生中の蛋白構成アミノ酸の変化については第 1 表の右端に増加或いは減少の符号を附して明記したように多くのアミノ酸量に変化が見られる。最も著しい変化は既に報告したように glycine の増加と alanine の減少である[10]。然し glutamic acid の増加も又顕著である。前研究[10]に於ては増加するアミノ酸はこれ以外には見当らなかつたが，第 1 表では尚 arginine, aspartic acid, hydroxyproline, lysine, methionine 及び proline の増加が数えられる。これは恐らくアミノ酸分析の精度の違いによるものであろう。発生中減少するアミノ酸には alanine の他に leucine 及び serine の減少が著しく，valine も同様である。又これ以外に減少の傾向を示すものとして isoleucine, phenylalanine, threonine が数えられる。

amide 窒素の減少は注目に値する。即ち amide 窒素の量は蛋白中の dicarboxylic acid である glutamic acid 及び aspartic acid の遊離酸基に於ける amide 結合の量を示し，これが発生中に漸次減少してゆくことを意味する。然も一方に於て glutamic acid 及び aspartic acid の量は増加しているため，発生中にこれら酸性アミノ酸の遊離酸基が次第に数多く出現してゆくことが推察される。CHEN[16]はイモリの一種 *Triton alpestris* 発生中のエキス中の glutamic acid 及び glutamine の変化について研究し，glutamic acid は尾芽胚期までは減少するがその後増加し，glutamine はそれと反行して増減するが，発生後期に於ては glutamic

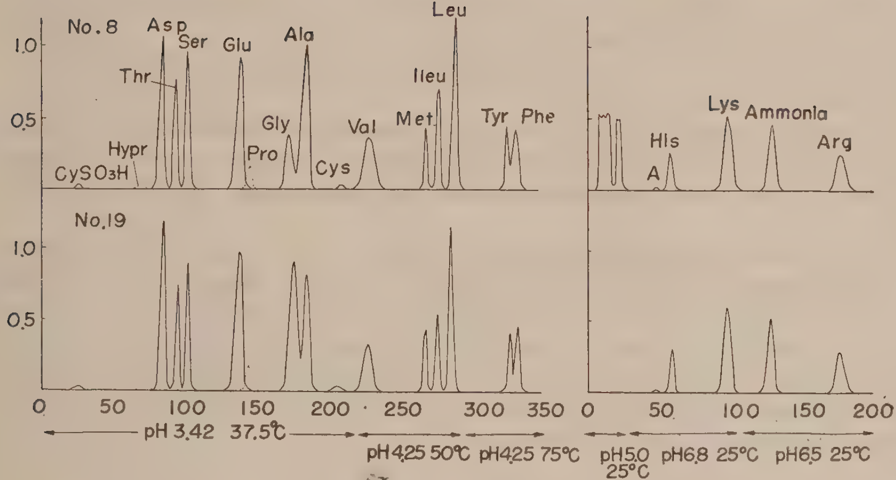


Fig. 1. Runs on hydrolyzate aliquots of unfertilized egg (No. 8) and fry (No. 19) containing about 4 mg. total amino acid using a 100 cm. or 15 cm. Dowex 50 column. Abscissa : tube number ; ordinate : optical density of the color developed (0.1776 corresponding to 0.1 mM leucine).

Table 1. Changes in amino acid composition of total protein during the development of rainbow trout (values given as % of protein, calculated to 16.0% N).

Sample† / Amino acid	No. 8 Unfertilized egg	No. 13 Eyed egg	No. 16 Sac fry, just after hatching	No. 17 Sac fry, ca. 1/3 yolk was absorbed	No. 19 Fry	Increase*	Decrease*
Alanine	8.24	8.23	8.20	7.73	5.30		++
Arginine	5.68	5.71	5.34	5.39	6.03	+	
Aspartic acid	9.15	9.24	9.37	9.35	10.40	+	
Cystine	1.05	1.00	1.13	1.34	1.10		
Glutamic acid	11.70	12.00	12.30	12.40	13.90	++	
Glycine	2.67	2.70	3.02	3.70	6.58	++	
Histidine	2.45	2.48	2.50	2.48	2.36		
Hydroxyproline	0.72	0.73	0.82	1.01	0.99	+	
Isoleucine	4.89	4.52	4.50	4.15	3.52		+
Leucine	9.67	9.22	9.15	8.82	7.79		++
Lysine	7.25	7.34	7.44	7.40	7.91	+	
Methionine	2.87	2.91	2.94	2.89	3.17	+	
Phenylalanine	5.71	5.24	5.24	5.15	4.68		+
Proline	6.67	6.70	6.83	7.00	7.28	+	
Serine	6.20	5.99	5.87	5.52	4.46		++
Threonine	4.89	4.75	4.77	4.70	4.48		+
Tryptophan	0.99	0.97	0.99	0.94	1.08		
Tyrosine	4.14	4.32	4.28	4.19	4.00		
Valine	6.26	6.19	6.15	5.58	4.52		++
Amide-N	1.91	1.92	1.74	1.66	1.56		+
Total	101.20	100.24	100.84	99.74	99.55		
Per cent N accounted for	97.4	97.0	95.9	94.7	95.4		

† Somples are the same as those used in previous report (this journal, **23**, 758 (1958)).
* + or ++ shows that the change is slight or remarkable.

acid の絶対量がかなり増加することを見ている。従つて，glutamic acid では遊離型及び結合型の両タイプに於て上記の傾向がとられることが予想される。

第1図に見られる cysteic acid は cystine の一部が酸で分解して生じたものであろう[17,18]。第1表に示した cystine 量はこれを加算したものである。

peak A が如何なる化合物によるか今の所不明である。DAMODARAN 等[19] は鮫鰭蛋白 elastoidin の加水分解物に於て著者の得た peak A よりやや前の流出区に同様な小さい peak を認めて β-alanine ではなかろうかと述べている。然し著者の peak A は流出位置から言つて hydroxylysine と思われるが，この点は今後確かめたい。

全般的にアミノ酸含量の増加も減少も孵化後顕著になる傾向にある。そこで問題となるのはアミノ酸含量の変化と蛋白質の消耗との関係である。一般分析の結果[11]では発生中に蛋白態窒素（全窒素よりエキス窒素及びリピト窒素を減じた値）が減少し，浮上期に於ては未受精卵に較べて半量以下になることを示したが，第1表のアミノ酸組成の上では，例えば glycine は浮上までに2倍以上に達している。即ちこの二つの事実より蛋白中の glycine の全量は発生中殆んど変化しないと言う計算が成り立ち，glutamic acid, aspartic acid, arginine 等の増加率の低いアミノ酸並びに変化の見られなかつたアミノ酸は消耗があり，第1表で減少を示したアミノ酸はより著しい消耗があることが推察されるのである。

摘　　要

イオン交換樹脂を用うるカラム・クロマトグラフィーによりニジマスの未受精卵の蛋白構成アミノ酸を定量した結果，アミノ酸組成の点からは栄養上優れたものであることを知つた。次いで発眼卵，孵化後の胚，浮上魚等の蛋白について定量したが，発生中，glycine, glutamic acid, aspartic acid, arginine, hydroxyproline, lysine, methionine, proline 等の含有量は増加し，alanine, leucine, serine, valine, isoleucine, phenylalanine, threonine, amide 窒素等の含有量は減少することを見た。又これらの変化について二三の考察を述べた。

本研究を行うに当り終始御懇篤なる御指導を賜わつた東京大学教授森高次郎先生，並びに試料採集に際して多大の御便宜を与えられた本学教授稲葉伝三郎先生，長野県水産指導所長谷崎正生氏に感謝の意を表する。又本研究に要した費用の一部は昭和 31 年度文部省科学試験研究補助金によつて支弁されたことを附記して謝意を表する。

文　　献

1) C. R. GRAU: J. Biol. Chem., **168**, 485 (1947).
2) W. C. HESS, E. H. KRAMKE, J. C. FRITZ and H. W. HOWARD: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **67**, 552 (1948).
3) F. A. CSONKA: J. Nutrition, **42**, 443 (1950).
4) J. C. LEWIS, N. S. SNELL, D. J. HIRSCHMANN and H. FRAENKEL-CONRAT: J. Biol. Chem., **186**, 23 (1950).
5) L. ARRIZONI and L. FISCHER: J. Am. Pharm. Assoc., **32**, 155 (1943).
6) H. L. SEAGRAN: Com. Fish. Rev., **15**, 31 (1953).
7) H. L. SEAGRAN, D. E. MOREY and J. A. DASSOW: J. Nutrition, **53**, 139 (1954).
8) C. P. DEAS and H. L. A. TARR: J. Fish. Res. Bd. Can., **7**, 513 (1949).
9) T. GUSTAFSON and M-B. HJELTE: Arkiv Kemi, **2**, 363 (1950).
10) 荻野珍吉，須山三千三：本誌，**23**, 227 (1957).
11) 須山三千三，荻野珍吉：本誌，**23**, 758 (1958).
12) K. A. KUIKEN, C. M. LYMAN, F. HALE, S. DIETERICH, M. BRADFORD, and M. TRANT: J. Biol. Chem., **171**, 551 (1947).
13) S. MOORE, and W. H. STEIN: ibid., **192**, 663 (1951).
14) E. W. YEMM and E. C. COCKING: Analyst, **80**, 209 (1955).
15) 須山三千三，鴻巣章二：本誌，**23**, 555 (1958).
16) P. S. CHEN: Exptl. Cell Res., **10**, 675 (1956).
17) W. H. STEIN and S. MOORE: J. Biol. Chem., **211**, 915 (1954).
18) H. H. TALLAN, S. MOORE and W. H. STEIN: ibid., **211**, 927 (1954).
19) M. DAMODARAN, C. SIVARAMAN and R. S. DHAVALIKAR: Biochem. J., **62**, 621 (1956).

市販澱粉の殺菌について*

曽 々 木 淑 子
（京都大学農学部水産微生物学研究室）

On the Sterilization of Commercial Starches

Toshiko SOSOGI

It is known that the preservation period of "Kamaboko" is influenced by the degree of the microbiological contamination of the starch used as a subsidiary raw material.

The present paper embodies a few observations of the chlorination of various commercial starches. Results obtained are as follows:

1. Anyone of the starches thus far examined, if treated with chlorine water of 5 times or 2.5 times the weight of it, became sterilized at chlorine concentrations higher than 300～400 p.p.m. (as available chlorine) in the former case (Table 1), or than 600～800 p.p.m. in the latter, respectively (Table 2).

2. The length of the time required for killing the bacterial spores appears to be little influenced by the environmental temperature (Table 3).

カマボコ類は表面からのみならず内部からも腐敗する[1]。表面の腐敗は主として大気中の塵埃に由来する細菌によつて起る[2]が，内部における腐敗は主として副原料として添加される澱粉によつて生ぜしめられ[3]使用澱粉の微生物学的汚染度が製品の保蔵力に大きな影響を及ぼすことが知られている。

従つて使用澱粉は微生物学的にできるだけ清潔なものが望ましく，もし無菌澱粉を使用することができれば腐敗し難い製品が得られるのではないかと想像される。しかしながら市販澱粉の殺菌に関する報告は殆んどなく，僅かに横関及び大島[4]の業績を見出すに過ぎないように思われる。同氏等は塩酸及びアルコール処理によつて無菌澱粉を得たが，これは研究用に僅少の試料を得るために行われたのであつて一般に応用するには不適当である。よつてこの研究に着手した。

市販澱粉は熱抵抗の強い細菌胞子を多量に含有しており，乾熱湿熱を問わずいわゆる加熱による方法で，これを殺菌することは殆んど不可能であるから，薬剤による殺菌方法を研究した。この研究は蒲鉾業者が自身の工場で容易に実施し得る殺菌方法を発見する目的であつたので使用する薬剤としては容易にしかも比較的廉価に入手でき，取扱も簡単で，かつ殺菌力の強く他に影響の少ないものが望ましかつた。そこでまず塩素を用いて研究を進めた処或る程度の成果が得られたので玆に報告する。

実　　験

実施法：一定濃度の有効塩素量を含む水溶液を調製し，この一定量に対して一定量の澱粉を混合し充分振盪攪拌した後一定温度に放置し，一定時間経過した後この一定量をとり，常法により普通寒天及び普通ブイヨンを用いて細菌を培養し，細菌の生死を検した。

供試澱粉：小麦澱粉３種（いずれも，味の素，旭味及び味日本の各調味料製造会社の製品で特級品と称せられているもの），馬鈴薯澱粉（１等品及び２等品）甘藷澱粉（並等品）

結果及び考察：供試澱粉を５倍量の塩素溶液に懸濁し 20°C に放置した場合の結果は第１表に示すようである。

1957 年 11 月 25 日　受理

* 研究費の一部は文部省総合科学研究費（分担木俣正夫）による

Table 1. The effect of chlonination on the bacteria contaminating several kinds of commercial starch, at 20°C.

Conc. of Cl_2 p. p. m.	Duration of chlorination (hrs.)											
	1	2	4	6	8	10	1	2	4	6	8	10
	Wheat starch, A						Potato starch, 1st grade					
100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
200	+	+	+	+	−	−	±	±	±	±	±	−
300	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
400	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
500	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Wheat starch, B						Potato starch, 2 nd grade					
100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
200	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	±	−
300	−	−	−	−	−	−	+	+	−	−	−	−
400	−	−	−	−	−	−	−	±	−	−	−	−
500	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Wheat starch, C						Sweet potato starch					
100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
200	+	+	±	+	−	−	+	+	+	+	+	+
300	−	−	−	−	−	−	+	+	±	+	±	−
400	−	−	−	−	−	−	+	+	±	−	−	−
500	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

+…………survived
−…………killed

この表から明かなように供試澱粉の大多数は有効塩素の濃度が 300～400 p. p. m. 以上ならば完全に殺菌される。

処理時間が長ければ低濃度の塩素量でも殺菌が可能のような傾向が幾分見られるが，処理時間の長短はそれ程大きな影響を与えないように思われる。

これは試料を 5 倍量の塩素溶液で処理した結果であるが，実際にはこのような大量の液で処理することは困難であるから，次に容易に処理できる程度の量と考えられる 2.5 倍量の液を用いて全く同様の実験を行い，第 2 表に示すような結果を得た。

Table 2. The effect of chlorination on the bacteria contaminating several kinds of commercial starch, at 20°C.

Conc. of Cl_2 p. p. m.	Duration of chlorination (hrs.)											
	1	2	4	6	8	10	1	2	4	6	8	10
	Wheat starch, A						Potato starch, 1st grade					
200	+	+	+	+	+	+	+	±	+	±	+	+
300	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−
400	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
500	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−
600	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
800	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
	Wheat starch, B						Potato starch, 2nd grade					
200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
300	+	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−
400	+	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
500	+	+	+	+	+	+	±	−	−	−	−	−
600	±	±	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
800	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

	Wheat starch, C						Sweet potato starch					
200	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
300	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+
400	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	±
500	+	+	±	+	+	±	+	+	+	−	−	−
600	−	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−
800	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

+…………survived
−…………killed

この表から供試澱粉の殺菌には有効塩素の濃度は 600～800 p. p. m. 以上を必要とすることがわかる。即ち処理溶液の量を半減すればその濃度を 2 倍に増加しなければならないものと思われる。

以上の実験はすべて 20°C の温度で行われたものであるが，夏期では室温も更に高く，又其の他の季節でも短時間であればもう少し高温で処理することも容易である。もし幾分高温で処理することによつて処理時間の短縮又は有効塩素の濃度の低下をはかることができれば極めて好都合であると考えられたので次ぎに温度の影響について観察した。実験方法は 2.5 倍量の液で処理し，其の他全く同様である。得られた結果を第 3 表に示した。

Table 3. The effect of chlorination on the bacteria contaminating several kinds of commercial starch, ah 25°C—40°C

Temp. °C	Conc. of Cl_2 p. p. m.	Duration of chlorination (hrs.)							
		1	2	4	6	1	2	4	6
		Wheat starch, A				Wheat starch, C			
25	300	+	+	+	+	+	+	−	−
	400	+	+	+	−	+	±	−	−
	500	−	−	−	−	−	−	−	−
	600	−	−	−	−	−	−	−	−
30	300	+	+	+	±	+	+	−	−
	400	+	+	+	−	±	±	−	−
	500	−	−	−	−	−	−	−	−
	600	−	−	−	−	−	−	−	−
35	300	+	+	+	+	+	+	+	+
	400	±	+	+	−	+	−	−	−
	500	−	−	−	−	−	−	−	−
40	300	+	+	+	+	+	+	+	+
	400	±	+	−	−	+	−	−	−
	500	−	−	−	−	−	−	−	−
		Wheat starch, B				Potato starch, lst grade			
25	300	+	+	+	+	+	±	±	−
	400	+	+	+	+	+	−	−	−
	500	±	+	+	+	−	−	−	−
	600	−	−	−	−	−	−	−	−
30	300	+	+	+	+	±	±	−	−
	400	+	+	+	+	±	−	−	−
	500	±	±	+	+	−	−	−	−
	600	−	−	−	−	−	−	−	−
35	300	+	+	+	+	−	−	−	−
	400	+	+	+	+	−	−	−	−
	500	+	+	+	−	−	−	−	−
40	300	+	+	+	+	−	−	−	−
	400	+	+	+	+	−	−	−	−
	500	+	+	−	−	−	−	−	−

+…………survived　　−…………killed

即ち処理温度が高い程塩素の濃度が幾分低くても殺菌できるような傾向を示しているが，この実験の範囲内では処理温度の差はそれ程大きな影響を与えていないように思われる。

以上の研究結果から澱粉を塩素溶液で殺菌する場合には処理時間の長短（1～10 時間）及び処理温度の高低（20°～40°C の範囲）は殺菌作用に対して大きな影響を与えず，殺菌作用は主として有効塩素の濃度に支配されることは明かであるから実際に蒲鉾工場等で市販澱粉を殺菌する場合には処理に用いる塩素溶液の有効塩素の濃度のみを注意すれば処理時間や処理温度に大きな考慮を払う必要はないであろう。

摘　　要

市販澱粉の塩素溶液による殺菌について研究し，次のことを明かにした。即ち澱粉を殺菌するためには，澱粉を 5 倍量の塩素溶液で処理する場合には，その溶液の有効塩素の濃度が 300 p. p. m. 以上又，2.5 倍量の塩素溶液で処理する場合にはその溶液の有効塩素の濃度が 600 p. p. m. 以上であることが必要である。又処理時間の長短及び処理温度の高低は殺菌効果に大きな影響を及ぼさない。

附　　記

細菌胞子の抵抗力は極めて強いが，もし胞子が発芽して繁殖体の形になれば抵抗力は弱く，したがつて使用する塩素溶液の濃度は極めて低く恐らく 50 p. p. m. 位の濃度でも充分であると考えられる。そこで予備実験として市販の馬鈴薯澱粉を滅菌水に懸濁して（澱粉 1 に対して滅菌水 2.5）30°C に保持し，胞子の発芽状況を追求した。（一定時間毎に混液をとり，80°C で 10 分加熱して繁殖体を殺した後常法により寒天平板培養を行つた）その結果は次のようであつた。即ち胞子は時間の経過に伴い発芽を開始する。而して最初に存在した数の約 30 %は 12 時間後でも発芽せずそのままの状態であるにかかわらず，早期に発芽した胞子はこの頃から再び胞子を形成し始める。斯る事実から見ると市販澱粉を単に水に懸濁して保温するだけでは澱粉を無胞子の状態にすることは出来ない。胞子の発芽を促進し，或は胞子の形成を阻止するような作用をもつた物質を添加すれば或る程度この目的を達することが出来るように思われるが，実際工場においてこのような操作を行うにはいろいろの困難を伴なうものと思われるのでこの研究ではこれらの点については一切触れなかつた。

終りに本研究を行うに当り終始御懇切なる御指導を賜りました当教室木俣正夫教授に深謝します。

文　　献

1) 木俣正夫：日水会誌，**16**，457～460（1951）.
2) 木俣正夫：日水会誌，**16**，562～565（1951）.
3) 木俣正夫：日水会誌，**16**，568～570（1951）.
4) 横関源延・大島浩：北海道水試報告，No. 71～25（1950）.

昭和三十三年四月二十日 印 刷
昭和三十三年四月二十五日 発 行

第二十三巻 第十二号

本号定価 110円
（送料別）

編集兼発行者 松 江 吉 行
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内

発 行 所 日本水産学会
東京都港区芝海岸通り6丁目 東京水産大学内
振 替 口 座 東 京 5 9 5 2 9 番

印 刷 者 篠 原 収 二

印 刷 所 東海出版印刷株式会社

発 売 所 東海出版印刷株式会社
東京都中野区江古田3の1223
電 話 中 野（38）4101・9108